BAND 42, HEFT 4 OKTOBER 1961

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. SCHAFFNIT

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. BALDACCI, Mailand / Prof. Dr. H. BRAUN, Bonn / Prof. Dr. W. B. BRIERLEY, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. N. HIRATSUKA, Tokyo / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. KÖHLER, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. MÜLLER, Canberra / Prof. Dr. T. S. SADASIVAN, Madras / Prof. Dr. TR. SAVULESCU, Bukarest / Prof. Dr. K. SILBERSCHMIDT, São Paulo / Prof. Dr. E. C. STAKMAN, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. GÄUMANN Zürich
M. KLINKOWSKI Aschersleben
H. RICHTER Berlin-Dahlem

Mit 36 Abbildungen

1961
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 42 Heft 4 *S. 305—404 Berlin 1961*

Postverlagsort Berlin

13 NOV 1961

INHALT

Abhandlungen

SIEGLE, H., Über Mischinfektionen mit *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis*. Mit 16 Abb. 305

GERLACH, W., und H. PAG, *Fusarium redolens* Wr., seine phytopathologische Bedeutung und eine an *Dianthus*-Arten gefäßparasitäre Form (*F. redolens* Wr. f. *dianthi* Gerlach). Mit 7 Abb. 349

KRÜGER, W., Das Schicksal von Antibiotika in Tomatenpflanzen. II. Aufnahme, Transport und Stabilität von Antibiotika in Pflanzen 362

NUBER, K., Untersuchungen über die „Kräuselkrankheit" an Hopfen (*Humulus lupulus* L.) im Tettnanger Anbaugebiet. Mit 12 Abb. 375

Kurze Mitteilung

KEGLER, H., Ein latentes Virus in deutschen Apfelsorten und -unterlagen. Mit einer Abb. 401

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Theodor-Roemer-Weg 4, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19. Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen), Mehrbedarf gegen Berechnung.

Vorbehalt aller Rechte, insbesondere auch der photomechanischen Vervielfältigung: Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe sind vorbehalten. Gewerblichen Unternehmen wird die Anfertigung einer photomechanischen Vervielfältigung von Beiträgen oder Beitragsteilen für den innerbetrieblichen Gebrauch durch Photokopie, Mikrokopie und dergleichen, nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens vom 14. 6. 1958, gegen Bezahlung der dort vorgesehenen Gebühr bis zu 3 Exemplaren gestattet. Die Vervielfältigungen haben einen Vermerk über die Quelle und den Vervielfältiger zu tragen. Die in dem Rahmenabkommen vorgesehene Gebühr ist an die Inkassostelle für Photokopiergebühren beim Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V., Frankfurt/M., Gr. Hirschgraben 17-19, zu entrichten. Erfolgt die Entrichtung der Gebühren durch Wertmarken der Inkassostelle, so ist für jedes Photokopierblatt eine Marke im Werte von DM 0,30 zu verwenden. Mit der Überlassung des Manuskriptes überträgt der Verfasser dem Verlag das Recht zu dieser Genehmigung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jedes Heft enthält etwa 7 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,75 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang des letzten Heftes des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Verlag: Paul Parey, Berlin und Hamburg, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, Telefon 61 44 68/69.
Printed in Germany (Westberlin).

Abonnementspreis dieses Heftes 26,20 DM **Einzelpreis 28,80 DM**

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Über Mischinfektionen mit *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis*

Von

H. Siegle

Mit 16 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung und Problemstellung. — B. Material und Methoden. I. Organismen; II. Methoden. — C. Die Veränderung der parasitischen Eignung von *Ophiobolus graminis* durch *Didymella exitialis*. I. Antagonismus zwischen den Erregern; II. Nährstoffkonkurrenz zwischen den Erregern. — D. Die Verschiebung der Krankheitsbereitschaft des Wirts. — E. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Ophiobolus graminis Sacc. ist einer der wichtigsten Erreger von Fußkrankheiten des Getreides, besonders des Weizens (Défago 1941). Die an Ophiobolose erkrankten Weizenpflanzen zeigen als Symptome eine von der Halmbasis ausgehende Schwärzung der Blattscheide und Wurzeln. Durch Schädigung der Leitungsgewebe vor allem der Primärwurzeln werden Wasseraufnahme und Wasserhaushalt des Wirts gestört. In deren Folge ergeben sich eine allgemeine Schwächung der Pflanze und ein geringerer Kornertrag (Weißährigkeit; Davis 1925, Oort 1936, Ludbrook 1942, Bockmann 1957, u. a.).

Unter natürlichen Umständen befällt der Erreger die Wirtspflanze selten allein. Meist liegen Mischinfektionen mit anderen bodenbewohnenden Getreideparasiten vor (Sprague 1935, u. a.). Es waren vor allem Sanford und Broadfoot (1931), Slagg und Fellows (1947) und Zogg (1951), die die Einflüsse anderer Pilze auf Pathogenität und Wachstum von *Ophiobolus graminis* untersuchten. Zogg (1950, 1951) unterschied bei seinen Infektionsversuchen mit Fußkrankheitserregern die Reaktionstypen „Indifferenz", „Depression" und „Verstärkung", je nachdem ob die Misch-

infektion, verglichen mit dem stärksten Erreger, ein Gleichbleiben, eine Abnahme oder Zunahme des parasitischen Erfolges bedeutet.

Angaben über gegenseitige Beziehungen zwischen *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller finden sich bei BROADFOOT (1933b), ZOGG (1951) und FLÜCK (1955). *Didymella exitialis* ist allgemein als Erreger von Blattflecken auf Gramineen bekannt (SPRAGUE 1950, SPRAGUE und JOHNSON 1950, MÜLLER 1952), vermag aber bei Weizen schwache Fußkrankheitssymptome auszulösen. Bei Infektionen mit Gemischen von *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* nimmt die Intensität der Schwarzbeinigkeit um rund 50% ab (Tab. 1). Von den erwähnten Autoren diskutierte lediglich FLÜCK (1955) die Möglichkeiten des Zustandekommens dieser Befallssenkung. In der vorliegenden Arbeit soll deshalb versucht werden, die Ursachen der Depression genauer zu klären.

Es wurden die folgenden Hypothesen geprüft: 1. *Didymella exitialis* verändert durch direkten Einfluß auf *Ophiobolus graminis* dessen parasitische Eignung (Kap. C). 2. Die Depression kommt indirekt durch eine Verschiebung der Krankheitsbereitschaft des Wirtes zustande (Kap. D).

Tabelle 1

Infektionserfolge auf jungen Weizenpflanzen mit *Ophiobolus graminis*, *Didymella exitialis* und dem Gemisch beider Erreger

	Krankheitsindizes K % nach 15 Tagen	Reaktionstypus
Ophiobolus graminis	65,2	
Didymella exitialis	8,6	
Mischinfektion	33,6	Depression
Infektion mit der Mischkultur	36,5	Depression
Kontrolle	0	

B. MATERIAL UND METHODEN

I. Organismen

1. Parasiten

Für die Untersuchungen standen die folgenden Pilzstämme zur Verfügung:

Ophiobolus graminis Sacc. (= *Gäumannomyces graminis* [Sacc.] v. Arx et Olivier = *Linocarpon cariceti* [B. et Br.] Petr.). Stamm ETH M 127.

In der vorliegenden Arbeit wurde die in der phytopathologischen Literatur am besten bekannte Bezeichnung *Ophiobolus graminis* beibehalten.

Didymella exitialis (Mor.) E. Müller (Nebenfruchtform: *Ascochyta sorghi* Sacc. = *Ascochyta graminicola* Sacc.). Stamm 761 der Eidgenössischen Land-

wirtschaftlichen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon und Stamm 23 der Bayerwerke Leverkusen (Deutschland).[1])

2. Wirtspflanze

Bei allen Versuchen wurde *Triticum aestivum* L. (= *Triticum vulgare* Vill.), Winterweizen „Probus", als Wirtspflanze verwendet.

II. Methoden

1. Kultur der Pilze und Wachstumsversuche

Die Stämme wurden durch vierteljährliches Überimpfen von Myzelstücken auf Malzagar in Kultur gehalten.

Ophiobolus graminis zeigte nach mehrmonatiger Kultivierung auf demselben Nährmedium Degenerationserscheinungen (schlechtes Wachstum, niedrige Pathogenität; siehe auch Abschn. C II). Deshalb mußte er vor der Verwendung als Inokulum stets während vier Wochen auf Weizenstroh aktiviert werden (6 Teile Wasser und 1 Teil kurz geschnittenes Stroh, zweimal in 24stündigem Abstand autoklaviert).

Da *Ophiobolus graminis* unter den angewandten Versuchsbedingungen weder Haupt- noch Nebenfruchtformen bildet, wurde der Pilz zur Gewinnung von Impfmaterial wenige Tage in der synthetischen Nährlösung (s. u.) auf einer Schüttelmaschine inkubiert. Diese Kultur diente als Inokulum.

Als Kulturmedium fand, wenn nicht anders vermerkt, die folgenden Nährlösung Verwendung (Flück 1955; alle Substanzen in der Qualität „pro analysi" oder „purissimum"): 2 % Glukose, 1,2 ‰ L(-)-Asparagin, 1,5 ‰ Primäres Kaliumphosphat, 0,5 ‰ Magnesiumsulfat (wasserfrei), 6 Tropfen einer 1 %igen Eisen(III)-chloridlösung; aqua dest., pH 6,3 bis 6,5 (eingestellt mit Kaliumhydroxyd). Vitamine (nur für *Ophiobolus graminis*): 0,5 mg/l Aneurin, 1 mg/l Biotin. Die Nährlösung wurde im Autoklaven bei 120 °C und 1 atü während 15 Minuten sterilisiert. Die Wachstumstests wurden in 100-ml-Erlenmeyerkölbchen mit je 20 ml der synthetischen Nährlösung und je nach Versuchsfrage verschiedenen Zusätzen durchgeführt. Beimpft wurden die Kölbchen mit je einem Milliliter einer mit steriler physiologischer Kochsalzlösung zehnfach verdünnten Myzelsuspension von *Ophiobolus graminis*. Bei anderen Testpilzen dienten Myzelscheibchen von 5 mm Durchmesser und gleicher Dicke, die mit einem Korkbohrer aus der Randpartie von Petrischalenkulturen (17,5 cm^3 Malzagar je Schale von 9 cm Durchmesser) steril ausgestochen worden waren, als Impfmaterial. Nach zwölftägiger Inkubation bei 24 °C wurden die Myzelien auf Papierfiltern (Schleicher und Schüll Nr. 604) abgenutscht, mit 5 mal 100 ml dest. Wasser von 60 °C gewaschen und nach Vortrocknen über Nacht bei 60 °C während 4 Stunden bei 105 °C getrocknet. Anschließend wurden die Filter mit den Myzelien im evakuierten Exsikkator erkalten gelassen und nach 20 Mi-

[1]) Den Herren PD Dr. H. Zogg, Oerlikon, und Dr. V. Flück, Leverkusen, sei an dieser Stelle für die Überlassung der Stämme bestens gedankt.

nuten auf einer „Mettler"-Analysenwaage gewogen. Das Mittel aus mindestens fünf Wiederholungen ergab das Myzeltrockengewicht.

Die Beantwortung besonderer Versuchsfragen gestattete die eigenen Bedürfnissen angepaßte Aufwuchsplattenmethode von CHOLODNY (1930) und WINTER (1947, 1949a, 1950): Sterile Objektträger wurden mit *Ophiobolus graminis* beimpft und in Petrischalen (Durchmesser 9 cm) mit je 80 cm^3 sterilem Terralit (s. u.) und 20 ml Nährlösung — der die zu prüfende Substanz beigemischt war — ausgelegt. Diese Platten wurden in Feuchtschalen im Dunkeln bei Zimmertemperatur inkubiert. Zur Gewinnung des Impfmaterials dienten mindestens vier Wochen alte Malzagarkulturen von *Ophiobolus graminis*. Die mit einem Korkbohrer (Durchmesser 8 mm) ausgestochenen Myzelscheibchen wiesen dann nur noch geringfügige Mengen von Nährstoffen auf, so daß störende Einflüsse von dieser Seite weitgehend ausgeschaltet waren. Zur Auswertung wurden die Aufwuchsplatten sorgfältig vom Terralit befreit und der Myzelzuwachs unter dem Mikroskop mit Hilfe des Kreuztisches ausgemessen. Die Streuung bewegte sich bei acht Meßwerten im Bereiche von 15 bis 20%.

2. Infektionsversuche

a) Vorkultur

Die Erreger wuchsen während zwölf Tagen in 500-ml-Erlenmeyerkolben mit je 60 cm^3 Terralit und 100 ml Nährlösung. Terralit, hergestellt aus Glimmermaterial (Vermiculit; WALKER 1951, FLÜCK 1955), erlaubt eine intensive Durchmischung und damit eine gleichmäßige Verteilung des Pilzmyzels. Nach jeweils sieben Tagen wurden die Kulturen gut umgerührt.

Die Inkubationstemperatur betrug 24 °C. Bei dieser Temperatur entsprechen sich die Myzelmengen von *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* nach zwölftägigem Wachstum (FLÜCK l. c.).

b) Beizen und Vorkeimen der Weizenkörner

Die Oberflächensterilisation der zu infizierenden, während 4 Stunden vorgequollenen Weizenkörner setzte sich aus einer Warmwasserbeize (52 °C; 10 Minuten) und einer Formolbehandlung (0,2%; 2 Stunden) zusammen.

Zur Vorkeimung wurden die gebeizten und steril gewaschenen Körner in angefeuchtete Filterpapierstreifen eingerollt und in einer sterilen Feuchtschale im Dunkeln bebrütet. Die Dauer der Vorkeimung betrug bei Zimmertemperatur zwei Tage.

c) Infektion

Nach Abgießen der Nährlösungen wurden die Vorkulturen dreimal mit sterilem destilliertem Wasser gewaschen. Dann wurden in die Kolben je 100 cm^3 trockenes, steriles Terralit und 100 ml Knop-Nährlösung (pH 6,3) gegeben, kräftig umgerührt und auf die Oberfläche 20 gebeizte und gleichmäßig vorgekeimte Weizenkörner ausgelegt. Das Ganze wurde mit ca. 100 cm^3 sterilem Terralit bedeckt, so daß ein gleichmäßiger Feuchtigkeitsgrad erreicht wurde.

Die wieder mit Stopfen aus roher Verbandwatte verschlossenen Kulturgefäße wurden in einer Gewächshauskabine bei 16 bis 24 °C aufgestellt. In diesem Temperaturbereich bleiben Wachstumsgeschwindigkeit der Weizenpflanzen und Pathogenität von *Ophiobolus graminis* im wesentlichen konstant (Henry 1932). Nach 15 Tagen konnten die Keimlinge bonitiert werden. In den Kontrollreihen fehlte, bei sonst gleicher Behandlung, das Inokulum. Bei den Infektionsversuchen mit Mischkulturen wuchsen die beiden Erreger schon in der Vorkultur gemeinsam. Für Mischinfektionen wurden die beiden getrennt gewachsenen Pilzkulturen jedoch erst unmittelbar vor dem Auslegen der Weizenkörner vermengt; diese Infektionsart ist also lediglich ein Extremfall der Infektion mit der Mischkultur, indem die Dauer der gegenseitigen präinfektionellen Einflußnahme der Parasiten bis gegen Null reduziert ist.

d) Bonitierung

Broadfoot (1933 a) beurteilte die Ophiobolose des Weizens mit den Noten 0 (clean) bis 10 (heavy+). Garrett (1934) und Slagg und Fellows (1947) maßen die Länge der Laufhyphen des Erregers (siehe Abschn. C II) an der Wirtswurzel. Während das zuerst erwähnte Verfahren wenig leistungsfähig und objektiv erscheint, ist das letztere hier nicht anwendbar, da *Didymella exitialis* keine Laufhyphen bildet.

Deshalb fand in den eigenen Versuchen die von Zogg (1951, 1957) modifizierte „Disease-Index"-Methode der British Mycological Society (Trans. brit. mycol. Soc. 31, 343—345 [1948]) Anwendung: Die Schwärzungsintensität wurde an jeder Pflanze nach einem einheitlichen Schema bonitiert. Die Bewertung von Halmbasis, Primärwurzeln und Sekundärwurzeln unter einheitlicher Anwendung des Maßstabes prozentualer Befallsstärke erlaubte die weitgehende Ausschaltung subjektiver Beobachtungsfehler. Der mittlere Krankheitsindex (K %) einer Versuchsanordnung ergab sich jeweils aus mindestens 100 infizierten Pflanzen.

3. Biochemische Methoden

a) Aneurinbestimmung

Aufarbeitung des Kulturfiltrates

Das Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* wurde durch Lösen seines Lyophilisates zum zehnten Teil des ursprünglichen Volumens konzentriert. Dieses Konzentrat diente als Testlösung.

Es erwies sich im Laufe der Untersuchungen als notwendig, zum Zwecke der Abtrennung von Verunreinigungen das Kulturfiltrat mit Asmit 173 (Harzadsorber, Hydro-Chemie Zürich) zu behandeln: Nach Reinigung mit Salzsäure und Natronlauge und Neutralwaschen mit destilliertem Wasser wurde die Asmitsäule (Dimension 2,6 × 100 cm) mit 2,5 l Kulturfiltrat beschickt und anschließend mit 2 l Methylalkohol eluiert. Der zu 5 % in destilliertem Wasser gelöste Rohextrakt (2 g/l Kulturfiltrat) diente als Testlösung.

Durchführung der Bestimmung

Die quantitative Aneurin-Bestimmung wurde mit *Lactobacillus fermenti* Beijerinck ATCC 9338/36 durchgeführt (DELLWEG und BERNHAUER 1956, MÜCKE 1957). Für orientierende Versuche gelangte die Methode des Plattendiffusionstests zur Anwendung, während genauen Bestimmungen Turbiditätsmessungen zugrundegelegt wurden.

Die Testplatten wurden in Anlehnung an das Verfahren von JUILLARD (1957) hergestellt. Der Testagar hatte die folgende Zusammensetzung: 4,25% Bacto-Thiamine Assay Medium Difco B 326, 1,5% Bacto-Agar Difco 0140-01, 1‰ L(-)-Cystein, 0,4‰ Eisen(II)-sulfat, aqua dest. Der Agar wurde in strömendem Dampf während 15 Minuten sterilisiert und — nach Abkühlung auf 45 °C — mit 10 ml/l der nach Difco-Vorschrift (Difco Manual 1953) hergestellten Bakteriensuspensionen versetzt. Dieses Testmedium wurde zu je 35 ml in Petrischalen von 9 cm Durchmesser gefüllt. Die Inkubationsdauer betrug bei 37 °C 16 bis 18 Stunden. Die Platten erwiesen sich, wenn bei 4 °C aufbewahrt, während einer Woche als haltbar.

Die Trübungsmessungen wurden entsprechend der Vorschrift über die Vitamin B_1-Bestimmung mit *Lactobacillus fermenti* (Difco Manual 1953) bei Testreihen mit konstanten Aneurinmengen und steigenden Zusätzen von Kulturfiltrat vorgenommen: Für die Standardmessungen fand eine wässerige Aneurinlösung (Ionenaustauscherwasser) Verwendung, wogegen bei den Testreihen das Vitamin B_1 direkt im Nährmedium (Bacto-Thiamine Assay Medium Difco B 326) gelöst wurde.

Zur Bestimmung der prozentualen Transmission bei 1 cm Schichtdicke und einer Wellenlänge von 540 mμ stand ein Zeiss-Spektralphotometer PMQ II zur Verfügung. Als Nullwerte dienten für die Standardreihe der Standard ohne Thiamin und für die Testreihen entsprechende ungeimpfte Vergleichsansätze. Das Mittel aus drei Wiederholungen erscheint als Wert für die Transmission.

Die verwendeten Glaswaren wurden nach 48stündigem Einlegen in Salzsäure mit Ionenaustauscherwasser sorgfältig gespült. Zum Gebrauch gelangten sie erst nach vierstündigem Erhitzen auf 160 °C.

b) Biotin-Bestimmung

Zur Bestimmung des Biotins fand als Testorganismus *Lactobacillus plantarum* Orla-Jensen (= *Lactobacillus arabinosus* Fred, Peterson et Anderson) ATCC 8014/17-5 Verwendung.

Im Unterschied zum Plattendiffusionstest mit *Lactobacillus fermenti* enthielt das Biotintestmedium 3,75% Bacto-Biotin Assay Medium Difco B 419. Die Zugabe der Bakteriensuspension erfolgte nach zehnminütiger Autoklavierung des Nährbodens. Die Platten wurden 18 bis 20 Stunden bei 30 °C inkubiert.

Prinzip und Durchführung des Trübungstests zur quantitativen Biotin-Bestimmung entsprachen dem B_1-Test (Difco Manual 1953). Die Bebrütungs-

temperatur betrug jedoch bei den Subkulturen und Testlösungen stets 30°C. Nach 18 bis 20 Stunden konnten die Transmissionsmessungen vorgenommen werden.

c) Zucker-Bestimmung

Qualitativer Zuckernachweis

Kohlenhydrate wurden papierchromatographisch getrennt und identifiziert. Als Laufmittel für die eindimensionale, absteigende Chromatographie diente das n-Butylalkohol-Eisessig-Wassersystem (Mischungsverhältnis 4 : 1 : 5), als stabile Phase Whatman-Papier Nr. 1. Die Bestimmung der Zucker erfolgte nach Entwicklung mit Anilin-Phthalsäure (Stange 1959) durch Vergleich mit mitgelaufenen Testlösungen bekannter Zusammensetzung.

Quantitative Glukose-Bestimmung

Zur quantitativen Bestimmung der Glukose im Kulturfiltrat fand die Methode Anwendung, die auf der kolorimetrischen Messung des rotgefärbten Formazans beruht, das durch reduzierende Zucker aus farblosem Triphenyltetrazoliumchlorid gebildet wird (Paech und Tracey 1955, verändert, vgl. Härri 1959).

d) Aminosäure-Bestimmung

Aufarbeitung des Kulturfiltrates

Bei der Papierchromatographie unbehandelter Kulturlösungen trennten sich die Aminosäuren schlecht. Erst durch Adsorption an Kationen- und Anionenaustauscher und nachfolgender Eluierung konnten die Störungen durch Mineralsalze und Kohlenhydrate ausgeschaltet und eine befriedigende Analyse erzielt werden.

Als Ionenaustauscher fanden Dowex 2 (X 8, Maschenzahl 100 bis 200, Cl^--Form) und Dowex 50 (X 8, Maschenzahl 100 bis 200, H^+-Form) Verwendung, die sich bei Drèze et al. (1954) und Sandhu (1959) bewährt hatten. Die Säulen der Dimension 2,5 × 4 cm wurden vor Gebrauch je zweimal abwechslungsweise mit 2 n Salzsäure und 2 n Natronlauge gewaschen.

Vor der Beschickung mit der Kulturlösung wurde die basische Säule Dowex 2 mit 40 ml 2 n Natronlauge von 45 °C (hergestellt mit kohlensäurefreiem aqua dest.) behandelt und anschließend mit kohlendioxydfreiem Wasser neutralgewaschen. Nach dem Durchfluß von 500 ml Kulturfiltrat konnten die Nichtelektrolyten und Kationen mit 200 ml Wasser und die neutralen und sauren Aminosäuren mit 200 ml 1 n Essigsäure eluiert werden.

Der saure Austauscher Dowex 50 erfuhr im Unterschied zum basischen eine Behandlung mit 1n Salzsäure, bevor er neutralgewaschen und die Kulturlösung zugesetzt wurde. Zur Aufnahme derselben wurde die Dowex 50-Säule hinter die basische geschaltet. Als Auswaschflüssigkeit der restlichen, vom basischen Austauscher nicht adsorbierten Aminosäuren diente 4 n Salzsäure.

Nach Eindampfen zur Trockene standen die Eluate zur papierchromatographischen Analyse bereit.

Qualitative Papierchromatographie

Die Trennung der Aminosäuren erfolgte durch eindimensionale, absteigende Chromatographie der 1%igen wässerigen Lösung der Eluate auf Whatman-Papier Nr. 1. Als Laufmittel fanden das n-Butylalkohol-Eisessig-Wassersystem (Mischungsverhältnis 4 : 1 : 5) und wassergesättigtes Phenol Verwendung.

Zur Identifizierung wurden die Chromatogramme mit Ninhydrin (DÖRFEL 1959) oder dem modifizierten Ninhydrinreagens nach MOFFAT und LYTLE (1959) entwickelt, das die einzelnen Aminosäuren in charakteristischen Farben erscheinen läßt. Auch trugen stets mitgelaufene Vergleichslösungen bekannter Zusammensetzung zur eindeutigen Bestimmung der Farbflecke bei.

Quantitative Bestimmung

Die quantitative Auswertung der mit Ninhydrin entwickelten Aminosäure-Chromatogramme wurde nach dem bei DÖRFEL (1959) beschriebenen Verfahren durchgeführt. Dieses beruht auf der Photometrierung der Kupferkomplexe der Ninhydrinfarbstoffe, wobei zur Gewinnung von genauen Bezugswerten Vergleichsgemische bekannter Zusammensetzung gleichzeitig zu chromatographieren und auszuwerten sind.

e) Nachweismethoden für Enzyme

Chitinase

Im Kulturfiltrat wurde die Chitinasebestimmung direkt vorgenommen. Bei der Untersuchung von Myzel fand das durch Zentrifugieren von den festen Teilen befreite Homogenat (POTTER und ELVEHJEM 1936) als Testlösung Verwendung.

Chitinase spaltet Chitin in n-Acetylglucosamin, das mit p-Dimethylaminobenzaldehyd zu einem roten Farbkomplex reagiert. Auf der Photometrierung dieses Farbstoffes beruht die hier verwendete Nachweismethode für Chitinase (PAECH und TRACEY 1955, verändert nach STOLL und PATAKI, nicht publ.): Für eine Bestimmung wurden 10 mg Chitin unter Umrühren in 0,4 ml konz. Salzsäure gelöst und durch tropfenweise Zugabe von 4 Vol. aqua dest. ausgefällt. Der mit destilliertem Wasser bis zur neutralen Reaktion des Filtrates gewaschene Niederschlag wurde in 9 ml 0,08 molarem Essigsäure-Natriumacetatpuffer (pH 5,0) aufgeschwemmt und mußte sogleich weiterverwendet werden.

Zum Chitinasenachweis wurde die Chitinsuspension mit einem Milliliter der zu prüfenden Lösung versetzt und während 2 Stunden bei 33 °C auf einer rotierenden Schüttelmaschine inkubiert. Ein Milliliter dieser Suspension wurde anschließend mit 0,3 ml einer gesättigten Lösung von Natriumtetraborat in einem Reagenzglas in siedendem Wasser während 7 Minuten erhitzt. Nach Abkühlen in fließendem kaltem Wasser und Zusatz von 9 ml Eisessig (p. a.) konnte ein Milliliter Ehrlich-Reagens (2 g p-Dimethylaminobenzaldehyd in 100 ml Eisessig und 5 ml konz. Salzsäure) beigegeben werden. Diese Lösung

war nach guter Durchmischung und Filtration durch Watte nach 50 Minuten zur kolorimetrischen Bestimmung bereit. Zur Kompensation diente eine entsprechende Lösung ohne Chitin und Testsubstanz, dafür mit einem Milliliter 0,08 molarem Essigsäure-Natriumacetatpuffer (pH 5,0).

Für die Extinktionsmessungen, die bei einer Wellenlänge von 540 mμ und einer Schichtdicke von 1 cm vorgenommen wurden, stand ein Spektralphotometer Zeiss PMQ II zur Verfügung. Die mittlere Extinktion aus drei Wiederholungen diente als Maß für die Chitinasemenge einer bestimmten Versuchsanordnung.

Pektinabbauende Fermente

Als Unterlage zur Prüfung einer Lösung auf ihre pektolytische Wirkung diente die Methode von McClendon und Somers (1960), wonach Kartoffelgewebescheibchen in die Enzymlösung eingelegt und nach einer bestimmten Einwirkungszeit auf ihre Festigkeit untersucht werden. Der Gewebezerfall wurde nicht apparativ gemessen; einzig das Vorhandensein bzw. Fehlen einer mazerierenden Wirkung wurde manuell, mit Hilfe einer Präpariernadel, festgestellt.

Die Aufarbeitung von Pilzmyzel für den Test entsprach der unter „Chitinase" angegebenen. Kulturfiltrat wurde — bei unverändertem pH — bei 0 °C mit Aceton versetzt und der bei einer Konzentration von 50 % ausgefallene Niederschlag nach 12 Stunden abzentrifugiert, gewaschen und lyophilisiert. Zum Test dienten 10 %ige Lösungen solcher Lyophilisate in destilliertem Wasser.

Cellulase

Hazra et al. (1958) beschreiben einen Plattentest zur Prüfung von Pilzen auf ihre cellulolytische Wirksamkeit. Das Prinzip dieses Verfahrens diente als Grundlage für die in den eigenen Versuchen angewandte Methode.

Petrischalen (Durchmesser 9 cm) mit 17,5 cm^3 Agar (2,5 % Difco Bacto-Agar 0140-01) erhielten eine zweite Agarschicht von 5 cm^3, die 0,25 % Zellulosepulver (Whatman Standard Grade) enthielt. Auf diese Testplatten wurden die zu prüfenden Lösungen mittels Filterscheibchen von 6 mm Durchmesser ausgelegt. Nach 24 Stunden Inkubation bei 37 °C konnten die Platten mit Chlorzinkjod-Lösung entwickelt werden; der Durchmesser der ungefärbten Zone diente als Maß für die cellulolytische Wirksamkeit der Testlösung, indem er auf ein jeweils mitgetestetes Standardpräparat bezogen wurde. Als solches fand der lyophilisierte Niederschlag Verwendung, der bei einer 50 %igen Acetonkonzentration aus Kulturlösung von *Ophiobolus graminis* nach zwölfstündigem Stehenlassen in der Kälte erhalten worden war.

4. Mikrotechnische Methoden

a) Differenzierende Hyphenfärbung

Für die direkte mikroskopische Untersuchung des Verhaltens von *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* in der Mischkultur auf Aufwuchs-

platten war es von entscheidender Bedeutung, daß die Hyphen beider Erreger mit Sicherheit unterschieden werden konnten. Morphologische Unterschiede fanden sich weder bei lichtmikroskopischer Prüfung noch unter dem Phasenkontrast- und Fluoreszenzmikroskop. Erst die Doppelfärbung der Präparate mit Phloxin und Methylenblau führte zum Ziel, da *Ophiobolus graminis* Erythrosinfarbstoffe kaum annimmt (WINTER 1949a) und erst durch eine anschließende Behandlung mit Methylenblau gefärbt wird. *Didymella exitialis* dagegen färbt sich mit Phloxin intensiv rot und bleibt von der nachfolgenden zweiten Färbung unbeeinflußt. Es wurde folgendermaßen vorgegangen:

Vitalfärbung mit Phloxin (= Erythrosin BB [CONN 1946]; 1% in wässeriger Lösung): 20 bis 30 Minuten
Waschen mit Leitungswasser
Färben mit Methylenblau nach LÖFFLER (1% in wässeriger Lösung): 30 bis 60 Minuten
Waschen mit Leitungswasser
Fixieren in Ammoniummolybdat (5%, wässerig): mindestens 2 Stunden
Härten in Formalinlösung (4%): 1½ bis 2 Stunden
Resultat: *Ophiobolus*-Hyphen hellblau, *Didymella exitialis* dunkelrot.

b) Histologische Untersuchungen

Die histologischen und mikrochemischen Untersuchungen an gesunden und infizierten Weizenwurzeln wurden durchweg an frischem Material vorgenommen. Dies gestattete im allgemeinen eine eindeutige Unterscheidung von Wirtsgewebe und Pilzhyphen. In Zweifelsfällen und zur Beantwortung besonderer Versuchsfragen wurden Wirt und Parasit durch Doppelfärbung mit Safranin-Lichtgrün (SCHÖMMER 1949) differenziert; dadurch erschienen lignifizierte Gewebe rot und die Hyphen grün.

Die Färbvorschriften für mikrochemische Untersuchungen wurden von SCHÖMMER (l. c.) und STRASBURGER (1923) übernommen. Grundsätzlich fanden die folgenden Nachweise Anwendung:

Zellulose: Direktfärbung mit Chlorzinkjod-Lösung.
Lignin: Färbung der Schnitte mit Phloroglucin-Salzsäure.
Suberin: Behandlung der Schnitte mit Javellewasser, anschließend Färben mit Sudan III.
Kallose: Färbung mit Anilinblau.
Pektin: Färbung mit Rutheniumrot.

C. DIE VERÄNDERUNG DER PARASITISCHEN EIGNUNG VON *OPHIOBOLUS GRAMINIS* DURCH *DIDYMELLA EXITIALIS*

Die parasitische Eignung eines Erregers, d. h. seine Fähigkeit, einen Wirt zu besiedeln, ihn zu schädigen und zu krankhaften Reaktionen zu veranlassen, stellt keine unveränderliche Größe dar; sie variiert innerhalb eines gewissen, für einen bestimmten Parasiten charakteristischen Bereiches. Als Ursachen für

diese Schwankungen kommen innere, plasmatisch bedingte Faktoren und äußere, durch die Umwelt gegebene Einflüsse in Frage (GÄUMANN 1951).

Liegt eine Mischinfektion mit ungleichstarken Erregern vom Typus „Depression" vor, wie das zur Diskussion stehende Beispiel mit *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis*, so sind es vorwiegend zwei äußere Faktorengruppen, die als Ursachen einer Pathogenitätssenkung beim stärkeren Partner in Frage kommen. Einerseits könnte *Didymella exitialis* durch Ausscheidung antibiotischer oder antimetaboler Stoffwechselprodukte *Ophiobolus graminis* hemmen oder schädigen (Antagonismus; Abschnitt I). Weiter wäre es möglich, daß die Depression die Folge einer durch die Anwesenheit des konkurrenzkräftigeren Mischinfektionspartners bedingten schlechteren Ernährung von *Ophiobolus graminis* darstellt (Nährstoffkonkurrenz; Abschnitt II).

I. Antagonismus zwischen den Erregern

1. Hemmung von *Ophiobolus graminis* durch *Didymella exitialis* in vitro

Nach ETTLINGER (1946) sind Produktion und Wirkung antibiotischer Stoffe von den Kulturbedingungen und der Eignung des Produzenten, sowie von der Haltbarkeit der gebildeten Hemmstoffe abhängig. Im vorliegenden Falle sind die Art der Kultivierung und der produzierende Organismus durch die Methodik der Infektionsversuche gegeben: Etwaige gegen *Ophiobolus graminis* wirksame Stoffwechselprodukte müßten sich also mit dem gleichen *Didymella*-Stamm und unter entsprechenden Kulturbedingungen (Nährlösung, Wasserstoffionenkonzentration, Temperatur usw.) nachweisen lassen. Wenn im folgenden die Basis der Hemmstoffversuche hinsichtlich Nährmedien, pH-Werten und auch Testorganismen ausgeweitet wurde, so deshalb, um mögliche antagonistische Stoffe anzureichern beziehungsweise um empfindlichere Testmethoden zu finden.

a) Einfluß von *Didymella exitialis* auf das Wachstum verschiedener Testorganismen

In einer Reihe von Vorversuchen ließ sich bei saprophytischem Wachstum in Petrischalen keine Hemmwirkung von *Didymella exitialis* oder deren Kulturfiltrat auf *Ophiobolus graminis* feststellen: Bei gleichzeitiger Beimpfung derselben Malzagarplatte mit beiden Pilzen wuchsen dieselben gegenseitig ins fremde Myzel hinein und stellten später ihr Wachstum ein. Es konnten weder Hemmzonen zwischen den beiden Organismen, noch morphologische Veränderungen an ihren Hyphen beobachtet werden. Auch die in einem Glaszylinder vor die Myzelfront des Testpilzes gebrachten Kulturlösungen der Stämme 761 und 23 von *Didymella exitialis* vermochten das Wachstum von *Ophiobolus graminis* nicht zu hemmen.

Zur Untersuchung von Kulturfiltrat auf antagonistische Stoffwechselprodukte wurden, wenn nicht anders vermerkt, die Nährlösungen zwölftägiger

Standkulturen von *Didymella exitialis* durch Dekantieren oder Zentrifugieren gewonnen und getestet.

Obwohl diese Vorversuche nicht darauf hindeuteten, daß *Didymella exitialis* einen gegen *Ophiobolus graminis* antagonistischen Stoff produziert, wurden Wachstumsversuche in der synthetischen Nährlösung durchgeführt. Damit wurde nicht nur eine Parallelität zu den Versuchsbedingungen der Mischinfektionen geschaffen, sondern es wurde auch berücksichtigt, daß Pilzmyzelien sich beim Wachstum an der Luft anders verhalten können als bei submerser Kultur (DARBY und GODDARD 1950). Weiter stellte unter anderen BROADFOOT (1933b) fest, daß von Pilzen produzierte antibiotische Stoffe auf gewissen Agarnährböden unwirksam werden können.

In Übereinstimmung mit der Versuchsanordnung von FLÜCK (1955) wurden den Testkölbchen zur Bestimmung der Myzeltrockengewichte steigende Mengen Kulturfiltrates von *Didymella exitialis* zugegeben. Das Ergebnis ist in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2
Einfluß steigender Mengen Kulturfiltrates von *Didymella exitialis* auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis*

% Kulturfiltrat ad 20 ml Nährlösung	Myzeltrockengewichte in mg	
	Kulturfiltrat Stamm 23	Kulturfiltrat Stamm 761
5	46,3	37,0
10	35,5	34,3
20	28,8	23,1
30	32,9	27,6
50	35,2	42,6
Kontrolle	58,2	

Beide Kulturlösungen üben auf das Wachstum des Testpilzes im Bereiche einer Zugabe von 5 bis 50 % zur Nährlösung eine Hemmwirkung aus. Die stärkste Hemmung findet bei 20 % statt. FLÜCK (l. c.) interpretierte diesen, allerdings in seinen Versuchen deutlicher ausgeprägten Wachstumsverlauf als Folge eines von *Didymella exitialis* produzierten hemmenden und fördernden Prinzips, wobei die Hemmstoffe, die im Kulturfiltrat in sehr kleiner Menge vorhanden oder von geringer Aktivität wären, durch die wirksameren Förderstoffe überdeckt würden. Wiederholungen dieses Versuches ergaben keine eindeutige Reproduktion der Wachstumskurve, wenigstens was die Hemmwirkung angeht. Nur die Wachstumszunahme bei Kulturfiltratzugaben über 20 % erschien regelmäßig.

Es stellte sich nun die Frage, ob diese Förderkomponente von *Didymella exitialis* ausgeschieden wird, oder ob dafür die mit der gebrauchten Kulturlösung notgedrungen noch zugegebenen Nährstoffe verantwortlich sind. Analog zu den Kulturfiltratzugaben wurden den Testkölbchen entsprechende

Zucker- beziehungsweise Mineralsalzmengen zugesetzt und nach zwölftägiger Inkubation die Myzeltrockengewichte des Testpilzes bestimmt. Unter der vereinfachenden Annahme, daß relativ gleiche Mengen Mineralsalze verbraucht werden wie Glukose, beschränkte man sich auf die quantitative Zuckerbestimmung im Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* und nahm diese als Berechnungsgrundlage für den Salzgehalt.

Die in fünf Parallelreihen durchgeführte Messung an Kulturlösungen von *Didymella exitialis* Stamm 761 ergab einen mittleren Glukoseverbrauch von 3 %: Die Testlösungen enthielten also einen um 3 % geringeren Gehalt an Glukose beziehungsweise an Mineralsalzen als die synthetische Nährlösung.

Wie aus Abbildung 1 ersichtlich ist, wirken sowohl der Mineralsalz- als auch, in geringerem Maße, der Zuckergehalt des Kulturfiltrates wachstumsfördernd auf *Ophiobolus graminis*, wenn sie in steigenden Mengen der Nährlösung zugesetzt werden. Das Ansteigen der Wachstumskurve des Testpilzes bei Zugabe von Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* muß somit auf den damit noch zugeführten Nährstoffen beruhen.

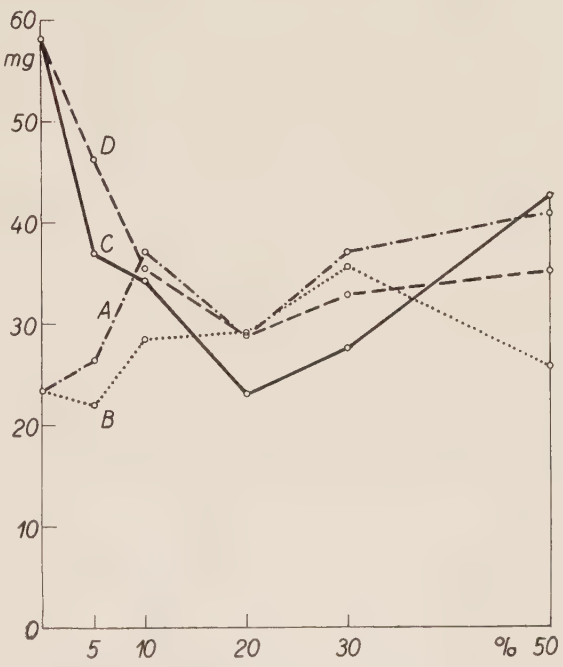


Abb. 1. Einfluß von Glukose und Mineralsalzen auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis*. Abszisse: Zugabe der Testlösungen (siehe Text) ad 20 ml synthetischer Nährlösung in Prozent. Ordinate: Myzeltrockengewichte nach 12 Tagen. Kurve A: Mineralsalzlösung. Kurve B: Glukoselösung. Zum Vergleich: Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* 761 (Kurve C) und 23 (Kurve D)

Durch Variationen der Bebrütungsdauer von *Didymella exitialis* wurde versucht, den eindeutigen Nachweis der unsicheren Hemmkomponente zu erbringen. Dies gelang nicht (Tab. 3). Es blieb noch zu klären, ob sich durch Myzelaufschluß Aktivität gegen *Ophiobolus graminis* erfassen ließe: Zur Beantwortung dieser Frage wurde *Didymella*-Myzel nach Abgießen der Kulturlösungen gewaschen, auf — 25 °C gekühlt und anschließend mit 5 % Pyrex-Glaspulver (Feinheitsgrad 300) in einer Reibschale während einer Stunde zerrieben. Nach zwölfstündiger Extraktion auf der Schüttelmaschine mit der dem Kulturfiltrat entsprechenden Menge destillierten Wassers wurde die Suspension zentrifugiert und das Überstehende in steigenden Zusätzen zur Nährlösung von *Ophiobolus graminis* getestet. Es zeigte sich, daß auch hier eine Hemmwirkung fehlte. Wohl aber

Tabelle 3

Einfluß der Filtrate verschieden lange inkubierter Kulturen von *Didymella exitialis* auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis*

Inkubationsdauer von *Didymella exitialis* in Tagen	Myzeltrockengewichte in mg bei 20 %iger Kulturfiltratzugabe	
	Kulturfiltrat Stamm 23	Kulturfiltrat Stamm 761
3	23,6	18,4
6	24,6	18,6
8	22,8	21,0
10	17,6	23,4
12	20,2	27,0
Kontrolle (+ 20 % Nährlösung)	20,6	
(+ 20 % Wasser)	22,2	

Tabelle 4

Einfluß steigender Mengen von Myzelextrakt von *Didymella exitialis* 761 auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis*

% Myzelextrakt ad 20 ml Nährlösung	Myzeltrockengewichte in mg
—	17,5
5	48,8
10	81,0
20	82,0
30	80,2
50	105,0

vermochten die durch den Myzelaufschluß freigewordenen Nährstoffe das Wachstum des Testpilzes sehr stark zu fördern (Tab. 4).

Durch Einbeziehen der folgenden Testpilze wurde die Suche nach dem fraglichen Hemmstoff von *Didymella exitialis* auf eine breitere Basis gestellt:

Alternaria tenuis auct. Stamm ETH M 5878
Aspergillus niger v. Tiegh. 626
Botrytis cinerea Pers. 4291
Coniothyrium diplodiella (Speg.) Sacc. 5738
Endothia parasitica (Murr.) Anders. 157
Fusarium lycopersici Sacc. 5405
Fusarium solani (Mart.) App. et Wr. 4874
Rhizoctonia repens Bern. 32

Bei saprophytischem Wachstum auf Malzagar konnte in keinem Falle das Bestehen eines Antagonismus zwischen *Didymella exitialis* und diesen Organismen beobachtet werden, ebensowenig hemmten die Kulturlösungen von *Didymella exitialis* Stamm 761 und 23 die Testpilze in Flüssigkeitskultur nennenswert (Tab. 5).

Tabelle 5

Einfluß von *Didymella*-Kulturfiltrat auf das Wachstum verschiedener Testpilze

Testorganismus	Inkubationsdauer (Tage)	Myzeltrockengewichte in mg		
		kein Zusatz	mit 20 % Kulturfiltrat Stamm 23	mit 20 % Kulturfiltrat Stamm 761
Alternaria tenuis	6	88,0	93,8	99,0
Aspergillus niger	6	62,0	72,3	74,0
Botrytis cinerea	13	82,0	60,3	100,5
Coniothyrium diplodiella	13	46,0	37,8	45,2
Endothia parasitica	12	53,7	68,0	58,5
Fusarium lycopersici	6	39,7	39,3	37,0
Fusarium solani	5	64,5	62,3	51,8
Rhizoctonia repens	9	47,0	54,7	57,7

Weder mit dem Test nach Grosser und Friedrich (1947), noch mit dem *Ustilago*-Sporenkeimungstest (Kobel 1952) und dem Welketest mit Tomaten (Gäumann et al. 1950, u. a.) gelang es, im *Didymella*-Kulturfiltrat ein antibiotisches Prinzip zu erfassen. Auch Agardiffusionstests gegen die folgenden Organismen verliefen erfolglos:

Bacillus subtilis Cohn Stamm ETH 2016
Escherichia coli (Mig.) Cast. 2018
Staphylococcus aureus Rosenb. 2070
Candida vulgaris auct. 5897
Saccharomyces cerevisiae Hans. M 108

Geprüft wurden die Filtrate beider *Didymella*-Stämme nach 4, 8, 12 und 18 Tagen Inkubationszeit und mit den Test-ph-Werten 6,3 und 4,0. Die Testlösungen entstammten Kulturen in der synthetischen Nährlösung, in der Nährlösung nach Knop mit 2 % Glukose und 0,5 % Hefeextrakt, sowie im folgenden Nährmedium: 2 % Malzextrakt, 2 % Distillers soluble, 0,5 % Natriumchlorid, 0,1 % Natriumnitrat.

Die dargelegten Untersuchungen schließen die Beteiligung eines antibiotischen Stoffwechselproduktes von *Didymella exitialis* aus. Für die unregelmäßig auftretende schwache Hemmwirkung des Kulturfiltrates gegen *Ophiobolus graminis* sind sehr wahrscheinlich gewisse Aminosäuren verantwortlich, die von *Didymella exitialis* ausgeschieden werden und die das Myzeltrockengewicht des Testpilzes reduzieren (siehe Tab. 11). Da diese Aminosäuren in sehr geringer

Konzentration auftreten, kommt ihre Wirkung neben den wachstumsfördernden Kulturfiltrat-Nährstoffen nur sehr beschränkt zur Geltung. Auch können sie mit Antibiosetests nicht erfaßt werden.

Damit verschiebt sich das Problem in das im Abschnitt II zu untersuchende Gebiet des Einflusses der präinfektionellen Ernährung auf *Ophiobolus graminis*. Die Vermutung FLÜCKS (1955), das Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* enthalte eine das Wachstum von *Ophiobolus graminis* hemmende und eine fördernde Komponente, ist damit bestätigt und konkretisiert. Allerdings ist noch nichts über die Unregelmäßigkeit des Auftretens des Hemmeffekts ausgesagt. Es fällt aber auf, daß die Intensität des Wachstums von *Ophiobolus graminis* in den Kontrollreihen immer sehr unterschiedlich ist und daß die Hemmwirkung von *Didymella exitialis* bei verhältnismäßig geringem Myzeltrockengewicht der Kontrolle ausbleibt (vgl. Tab. 3). Ob dabei gewisse Degenerationserscheinungen von *Ophiobolus graminis* eine Rolle spielen, ist noch ungeklärt.

b) Einfluß von *Didymella exitialis* auf die Pathogenität von *Ophiobolus graminis*

Die Tatsache, daß im Wachstumsversuch kein Antagonismus nachweisbar ist, schließt die Möglichkeit des Vorhandenseins von Stoffwechselprodukten, die spezifisch auf die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* wirken, nicht aus. SANFORD und BROADFOOT (1931), BROADFOOT (1933 b) und JOHNSON (1952) wiesen unter anderem nach, daß Antagonismus bei saprophytischem Wachstum nicht unbedingt auch Hemmung der Pathogenität bedeutet, und umgekehrt.

Um die Frage zu beantworten, ob *Didymella exitialis* Stoffe ausscheidet, die die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* herabsetzen, wurde Kulturfiltrat mit verschiedenen Lösungsmitteln extrahiert und die Extrakte den *Ophiobolus*-Vorkulturen zugesetzt. Die Pathogenität wurde im Infektionsversuch an Weizenkeimlingen geprüft.

Je 800 ml Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* 761 wurden lyophilisiert und anschließend während 24 Stunden bei 4 °C mit verschiedenen Lösungs-

Tabelle 6

Infektionserfolge von *Ophiobolus graminis* auf Weizenkeimlingen nach Zusatz verschiedener Kulturfiltratextrakte von *Didymella exitialis* 761 zur Vorkultur

Lösungsmittelextrakt	Krankheitsindizes K % nach 15 Tagen
Benzol	54,4
Äther	59,8
Essigester	55,5
Aceton	58,5
Äthylalkohol	62,2
Wasser	60,0
Kontrolle (ohne Zusatz)	60,5

mitteln extrahiert. Die Extrakte wurden filtriert, die Filtrate am Vakuum bei 45 °C zur Trockne gebracht und mit 0,5 ml 96%igem Äthylalkohol aufgenommen. Nach Auffüllen der Lösungen mit destilliertem Wasser auf je 10 ml wurden sie durch Seitz-Filtration entkeimt und zu je 2 ml unter sterilen Bedingungen auf die Vorkulturkolben verteilt.

Die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* blieb durch Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* oder daraus hergestellte Extrakte unbeeinflußt (Tab. 6): *Didymella exitialis* produziert in vitro keine Antibiotika, die die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* reduzieren.

2. Antimetabolismus zwischen den Erregern

Die Nährstoffansprüche der beiden in Frage stehenden Erreger unterscheiden sich hinsichtlich des Vitaminbedarfes: Die Befunde von White (1941) und Flück (1955), daß *Ophiobolus graminis* im Gegensatz zu *Didymella exitialis* Aneurin- und Biotin-heterotroph ist, konnten bestätigt werden. Durch Erhöhung der Aneuringaben in der Vorkultur gelang es Flück (l. c.), die Pathogenität von *Ophiobolus* zu steigern. Biotin zeigte dieselbe Wirkung, wenn auch in geringerer Ausprägung. *Didymella exitialis* blieb durch Vitaminzusätze zur Nährlösung unbeeinflußt.

Es stellte sich nun die Frage, ob *Didymella exitialis* Antianeurin- oder Antibiotinfaktoren ausscheidet, die die Wirkung der in der Nährlösung vorhandenen Vitamine aufheben oder zumindest verringern. Durch einen solchen Antimetabolismus (Woolley 1952, Somogyi 1956, Shive und Skinner 1958, u. a.) müßte die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* bei der Mischinfektion herabgesetzt werden. Hemmwirkungen von Aneurinhomologen auf Mikroorganismen stellten unter anderen Woolley und White (1943) und Somogyi (1952) fest, Antibiotineffekte Lilly und Leonian (1944), Pilgrim et al. (1945) und Goldberg et al. (1947).

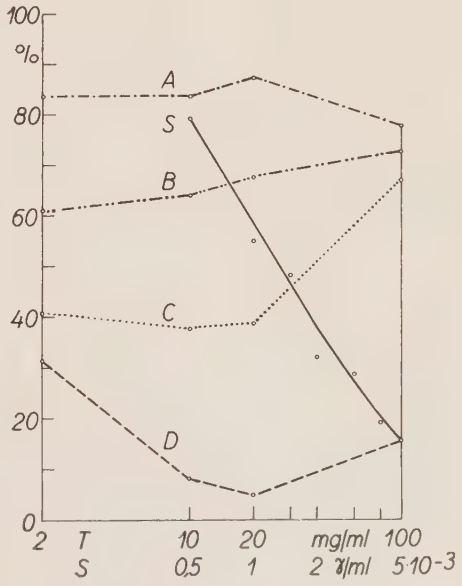


Abb. 2. Einfluß von Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* 761 auf das Wachstum von *Lactobacillus fermenti*. Abszisse: Logarithmus der Testkonzentration. Ordinate: Prozentuale Transmission bei λ = 540 mμ. Kurve A: 0,5 mγ/ml Aneurin. Kurve B: 1 mγ/ml. Kurve C: 2 mγ/ml. Kurve D: Kontrollreihe ohne Aneurin. S: Standard. T: Testreihe (Lyophilisat des Kulturfiltrates)

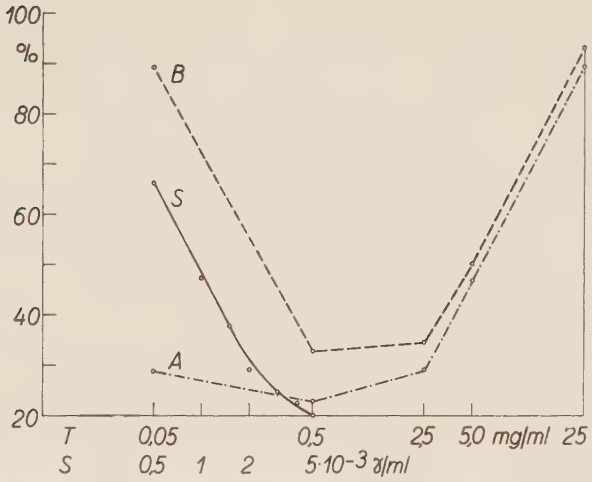


Abb. 3. Einfluß des Methanolextraktes der Kulturlösung von *Didymella exitialis* 761 auf das Wachstum von *Lactobacillus fermenti*. Abszisse: Logarithmus der Testkonzentration. Ordinate: Prozentuale Transmission bei $\lambda = 540$ mμ. Kurve A: 2 mγ/ml Aneurin. Kurve B: Kontrollreihe ohne Aneurin. S: Standard. T: Testreihe (Lyophilisat des Kulturfiltrates)

In einer orientierenden Voruntersuchung des Kulturfiltrates von *Didymella exitialis* auf Antivitaminfaktoren wurde die Testlösung mittels Filterpapierstreifen kreuzweise mit Aneurin- bzw. Biotinlösungen verschiedener Konzentrationen auf die Testplatten gebracht. In keinem Falle konnte die ein antimetaboles Verhältnis charakterisierende Wachstumshemmung der Testbakterien festgestellt werden (BONIFAS 1952, JUILLARD 1957).

Wegen der verhältnismäßig geringen Empfindlichkeit der Plattentests schien eine Wiederholung der Untersuchung mit der exakter arbeitenden turbidimetrischen Methode gerechtfertigt. Wachstumsmessungen mit dem Aneurinheterotrophen *Lactobacillus fermenti* ergaben bei hoher Konzentration der zu testenden Substanz eine Hemmwirkung, sowohl bei Aneurinzusatz als auch in der Kontrollreihe (Abb. 2). Bei Vorhandensein eines Antianeurinfaktors in der Testsubstanz würde die Wachstumshemmung nur bei den Versuchsreihen mit Vitamin B_1-Zugabe in Erscheinung treten. Daß ein solcher Antimetabolit nicht durch wirksamere Hemmstoffe überdeckt wurde, zeigte deren Auftreten auch in dem mit Asmit gereinigten Kulturfiltrat (Abb. 3).

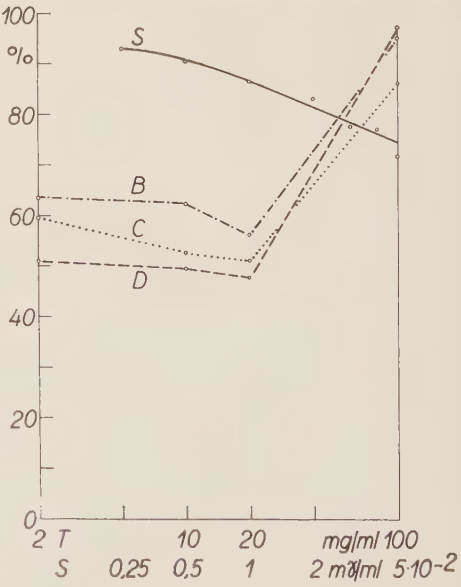


Abb. 4. Einfluß der Kulturlösung von *Didymella exitialis* 761 auf das Wachstum von *Lactobacillus plantarum*. Abszisse: Logarithmus der Testkonzentration. Ordinate: Prozentuale Transmission bei $\lambda = 540$ mμ. Kurve B: 0,01 mγ/ml Biotin. Kurve C: 0,1 mγ/ml. Kurve D: Kontrollreihe ohne Biotin. S: Standard. T: Testreihe (Lyophilisat des Kulturfiltrates)

Entsprechend den Verhältnissen bei Aneurinzusätzen mußte die in den Versuchsreihen mit Biotin entstehende Wachstumshemmung von *Lactobacillus plantarum* auf im Kulturfiltrat vorhandene für das Testbakterium toxische Stoffe zurückgeführt werden (Abb. 4).

Damit erwies sich die Erwartung als unbegründet, daß *Didymella exitialis* Aneurin- oder Biotinhomologe produziert, die durch Blockierung der die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* bestimmenden Vitamine die Befallsdepression bei Mischinfektionen verursachen könnten.

3. Gegenseitige Beziehung der Erreger in der Rhizosphäre

Die Frage, ob die bis dahin unberücksichtigt gebliebene Wirtspflanze als mitbestimmender Faktor bei einem möglichen Antagonismus zwischen *Didymella exitialis* und *Ophiobolus graminis* in Erscheinung tritt, soll im vorliegenden Abschnitt untersucht werden. Im Hinblick darauf, daß *Ophiobolus graminis* als bodenbürtiger Erreger die Wurzeln infiziert, interessierte vor allem die Rhizosphäre des Wirts, die für die Mischinfektionspartner neue Bedingungen schafft.

Hiltner (1904) bezeichnete ein stark intensiviertes mikrobielles Wachstum als charakteristisch für diese wurzelnahe Zone. Dafür werden verschiedene Stoffe verantwortlich gemacht, die von den Wurzeln ausgeschieden werden und in deren nächster Umgebung wirksam sind (Winter 1952, Rovira 1956 b, 1956 c, Starkey 1958, u. a.). West (1939) gelang es, in Wurzelsekreten von Flachskeimlingen Aneurin und Biotin nachzuweisen. Weizenwurzeln (Katznelson et al. 1955) und Haferwurzeln (Rovira 1956 a) produzieren unter anderem Aminosäuren und Kohlenhydrate.

Im Zusammenhang mit den gegenseitigen Beziehungen pflanzenpathogener Pilze im Boden sind solche, meist spezifisch wirkende Wurzelexsudate von großer Bedeutung, vermögen doch verschiedene Wirtspflanzen mit ihrer Hilfe Antagonisten eigener Parasiten zu fördern und sich somit vor Infektionen zu schützen (Lochhead et al. 1940, Timonin 1941, Winter und v. Rümker 1949, Buxton 1960, u. a.).

Neben diesen das mikrobielle Wachstum begünstigenden Faktoren machen Wurzelhemmstoffe die Rhizosphäre für bestimmte Erreger unbewohnbar. Diese Fragen berühren den Problemkreis der Wirtsresistenz (Garrett 1941, Winter 1949 b, Winter und v. Rümker 1950, Williams und Schmitthenner 1960, u.a.).

Hinsichtlich eines Einflusses der Ausscheidungen von Weizenwurzeln auf die *Ophiobolus-Didymella*-Beziehung sind zwei Möglichkeiten denkbar: 1. *Didymella exitialis* wird als latenter Antagonist durch solche Exsudate gefördert und in den Stand gesetzt, *Ophiobolus graminis* stofflich zu hemmen oder zumindest mechanisch von der Wirtsoberfläche zurückzudrängen. 2. *Ophiobolus graminis* wird bei Anwesenheit von *Didymella exitialis* durch Wurzelsekrete gehemmt. Diese zweite Annahme bedeutete eine Ände-

rung der Krankheitsbereitschaft des Wirts. Sie wird in Kapitel D untersucht werden.

Die Prüfung des antagonistischen Verhaltens beider Erreger auf einem Agarmedium, dem wässeriger Extrakt aus homogenisierten Weizenwurzeln beigemischt worden war, ergab keine positiven Resultate. Eine entsprechende Kulturlösung von *Didymella exitialis* hemmte *Ophiobolus graminis* im Plattentest ebenfalls nicht.

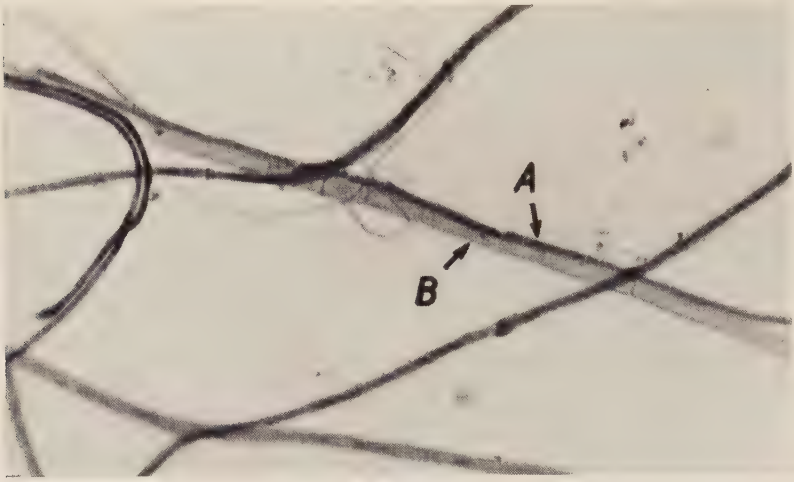


Abb. 5. *Didymella*-Myzel (dunkelgefärbt) begleitet eine *Ophiobolus*-Hyphe (hell, septiert). A = *Didymella exitialis*. B = *Ophiobolus graminis*. Vergr. 520×

In der modifizierten Aufwuchsplattenmethode wurde ein Verfahren gefunden, das empfindlicher arbeitete und gleichzeitig die Frage einer möglichen präinfektionellen Konkurrenzierung der Mischinfektionspartner beantwortete: Die Aufwuchsplatten wurden in Terralit ausgelegt, das mit der synthetischen Nährlösung getränkt und mit Myzel von *Didymella exitialis* durchmischt worden war. Die gute Haftfähigkeit der Hypen beider Parasiten auf dem Glas erlaubte es, die Objektträger — befreit von Terralitresten — direkt mit den Färbe- und Fixierlösungen zu behandeln, anschließend lichtmikroskopisch zu untersuchen und zu photographieren. Dabei ließ sich beobachten, daß die *Ophiobolus*-Hyphen zuerst bis zu einem Radius von im Mittel 2,3 mm (nach sechs Tagen Inkubation) auswachsen, dann aber ihr Wachstum einstellen und allmählich unter dem Einfluß von *Didymella exitialis* in Bruchstücke zerfallen (nach 12 und 16 Tagen; im Kontrollversuch ohne *Didymella*-Myzel betrug der Radius der Wachstumszone nach sechs Tagen 3,7 mm, und nach zwölf Tagen war der Objektträger nahezu völlig überwachsen): Anfänglich wachsen die *Didymella*-Hyphen zu denen von *Ophiobolus graminis* hin und folgen ihnen streckenweise, ohne daß etwa eine parasitische Beziehung zwischen beiden Partnern festgestellt werden könnte (Abb. 5). Erst nach mindestens zwölf Tagen Versuchsdauer zeigt es sich, daß *Didymella exitialis* an vielen Stellen

eine dünne Hyphe in die fremden Zellen vortreibt (Abb. 6, 7, 8), die im Innern des Wirts erstarkt und ihn abtötet: Nach 16 Tagen Inkubationszeit sind die *Ophiobolus*-Hyphen nur mehr als Bruchstücke vorhanden (Abb. 9).

Offenbar durchdringt *Didymella exitialis* die fremde Zellwand nur unter bestimmten Umständen direkt mit der Hyphenspitze (Abb. 6). Meist gehen zwei parasitierende Hyphen als seitliche Äste vom Hauptmyzelstrang ab (Abb. 7 und 8), wobei sie ohne Anwendung von mechanischem Druck die Zellwand gleichsam mühelos zu durchbohren scheinen. Diese Beobachtung entspricht derjenigen von Paddock (1953), wonach bei intrazelluar wachsenden Hyphen von *Helminthosporum victoriae* Meeh. et Murphy im Blattgewebe von Hafer ebenfalls zwei Seitenäste auftreten können, die ohne Appressorien Membranen durchwachsen: Nach Hawkins und Harvey (1919) und Leach (1923) deutet haftscheiben-

Abb. 6. Penetration einer *Ophiobolus*-Hyphenzelle durch eine Hyphenspitze von *Didymella exitialis*. A = *Didymella exitialis*. B = *Ophiobolus graminis*. C = ins fremde Myzel vorgetriebene parasitierende Hyphe. Vergr. 1150×

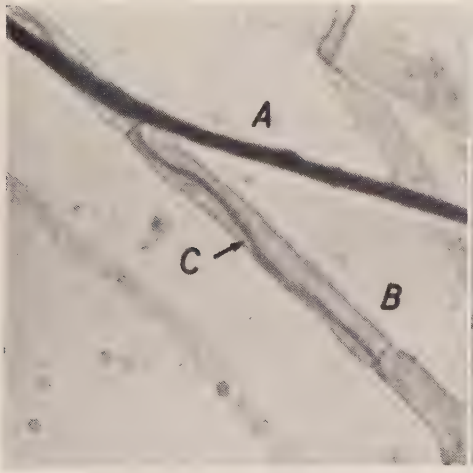


Abb. 7 (links). Penetration einer *Ophiobolus*-Hyphe durch *Didymella exitialis* mit zwei Hyphenästen (oberer Hyphenast unvollständig sichtbar). A = *Didymella exitialis*. B = *Ophiobolus graminis*. C = parasitierender Hyphenast. Vergr. 1150×

Abb. 8 (rechts). Penetration von *Ophiobolus*-Myzel durch *Didymella exitialis* nach Ausbildung eines Appressoriums. A = *Didymella exitialis*. B = *Ophiobolus graminis*. C = parasitierender Hyphenast. D = Appressorium. Vergr. 1150×

artige Verdickung der Hyphe bei der Penetrationsstelle auf mechanischen Durchbruch hin.

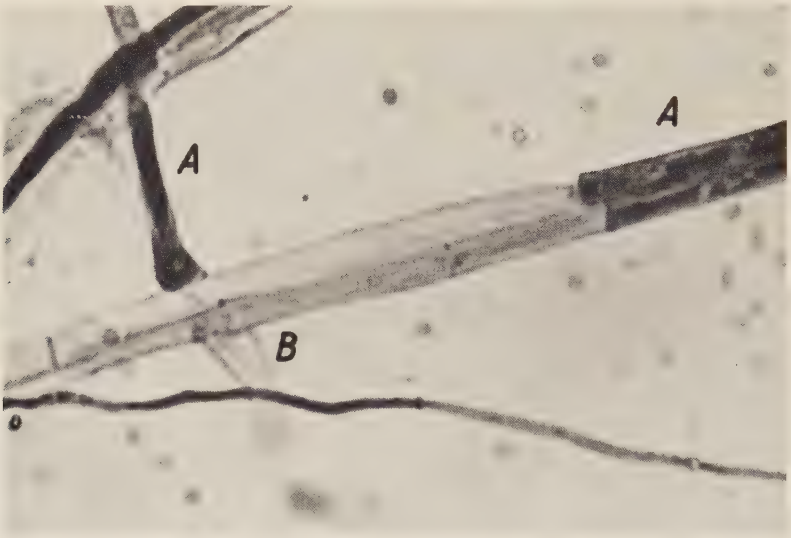


Abb. 9. Mit *Didymella exitialis* durchsetzte *Ophiobolus*-Hyphen. A = *Didymella exitialis*. B = abgestorbene *Ophiobolus*-Hyphenzellen. Vergr. 1280×

Didymella exitialis bildet wohl auf Grund gewisser mechanischer oder chemischer Reize (PURDY 1958) auch Appressorien aus (Abb. 8 und 9). Da jene aber nur selten zu beobachten sind, muß der Parasit in der Lage sein, die Hyphenwände enzymatisch aufzuschließen: Es gelang, im Myzel von *Didymella exitialis* Chitinase nachzuweisen. Die Menge erwies sich als unabhängig davon, ob im Kulturmedium kolloidales Chitin (LINGAPPA und LOCKWOOD 1961) vorhanden war oder nicht (Tab. 7). Das läßt darauf schließen, daß die Chitinase für *Didymella exitialis* ein konstitutives Enzym darstellt.

Tabelle 7

Einfluß des Substrates
auf die Chitinasebildung von *Didymella exitialis*

Substrat	Testobjekt	Testkonzentration	Extinktion
Synthetische Nährlösung ohne Chitin	Myzel	$0{,}315 \cdot 10^{-1}$ g/ml (bezogen auf das Trockengewicht)	0,114
	Kulturfiltrat	(unbehandelt)	0
Synthetische Nährlösung mit 0,03 mg/ml Chitin	Myzel	$0{,}315 \cdot 10^{-1}$ g/ml	0,126
	Kulturfiltrat	(unbehandelt)	0

Da die Zellwände der in Frage kommenden Ascomyceten neben Pektin und Hemizellulosen vorwiegend aus Chitin bestehen (COCHRANE 1958, SCHWARTZ und SCHWARTZ 1960), ist ein Zusammenhang zwischen der Chitinaseproduktion und dem Zellwandaufschluß gegeben. Dies um so mehr, als *Didymella exitialis* keine pektinabbauenden Fermente in nachweisbaren Mengen produziert.

Die gewählte Versuchsgrundlage entspricht der saprophytischen Lebensphase von *Ophiobolus graminis*, während der er nach GARRETT (1936, 1938 a, 1938 b), WINTER (1949 a, 1950) und anderen unter natürlichen Verhältnissen nur kümmerlich zu überleben vermag: Sehr rasch löscht er im Boden aus, bedrängt durch konkurrenzfähigere Saprophyten, wenn er sich nicht rechtzeitig auf einen neuen Wirt retten kann. Als Ergänzung zu den beiden oben erwähnten Hypothesen eines möglichen Einflusses von Wurzelsekreten auf eine antagonistische Beziehung zwischen beiden Erregern muß deshalb, auf Grund der Tatsache, daß *Didymella exitialis* auf *Ophiobolus graminis* zu parasitieren vermag, eine dritte Versuchsfrage gestellt werden: Zerstört *Didymella exitialis* die Hyphen von *Ophiobolus graminis* auch bei Anwesenheit von Wirtswurzeln, also in dessen parasitischer Lebensphase, während der er gegen mikrobiellen Antagonismus widerstandsfähiger ist?

Durch Auslegen von gebeizten, drei Tage steril vorgekeimten Weizenkörnern auf den Rand der Aufwuchsplatten, derart, daß die Wurzeln über den Objektträger hinwegwuchsen, konnte mit der grundsätzlich gleichen Versuchsmethodik der Einfluß des Wirts auf die beiden Mischinfektionspartner untersucht werden.

Die Wurzeln üben auf *Didymella exitialis* und *Ophiobolus graminis* einen Wachstumsreiz aus, der nach mindestens sieben Tagen Inkubation manifest wird. Eine spezifische Stimulation von *Didymella exitialis* wurde nicht beobachtet, auch Anzeichen einer stofflichen Hemmung von *Ophiobolus graminis* durch diesen Erreger im Wurzelbereich konnten nicht festgestellt werden. Wohl aber befällt *Didymella exitialis* die Hyphen von *Ophiobolus graminis* auch bei Kontakt mit lebenden Weizenwurzeln (Abb. 10 und 11). Während sich nach sieben Tagen die beiden Pilze mengenmäßig noch die Waage halten, herrschen nach 14 Tagen die

Abb. 10. Parasitismus von *Didymella exitialis* auf *Ophiobolus graminis* in der Rhizosphäre. A = *Didymella exitialis*. B = *Ophiobolus graminis*. C = Wurzelfragment. Vergr. 570×

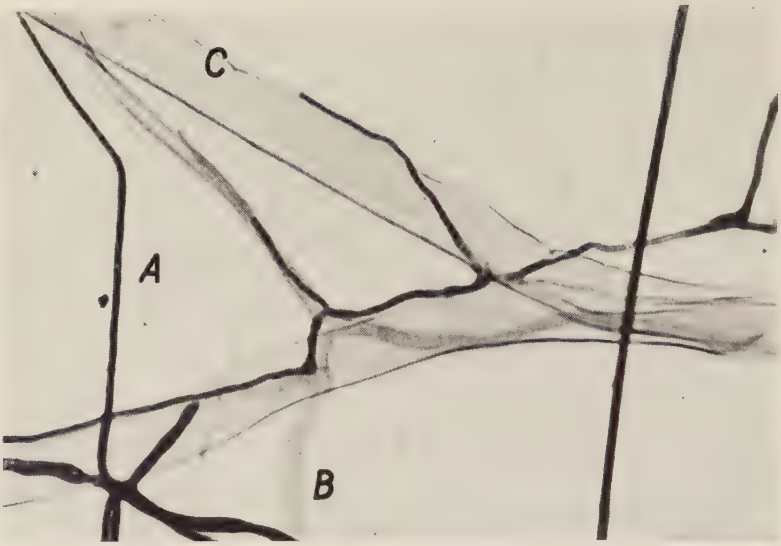


Abb. 11. Parasitismus von *Didymella exitialis* auf *Ophiobolus graminis* in der Rhizosphäre. A = *Didymella exitialis*, B = *Ophiobolus graminis*, C = Wurzelhaar. Vergr. 520×

Hyphen von *Didymella exitialis* in der Rhizosphäre vor (Abb. 12). Dies aber nicht wegen spezifischer Förderung durch Wurzelsekrete — eine solche müßte früher zur Geltung kommen — sondern wegen der Zerstörung des *Ophiobolus*-Myzels.

Die Fähigkeit von *Didymella exitialis*, die Hyphen von *Ophiobolus graminis* zu zerstören, bedeutet, daß *Ophiobolus* bei der Mischinfektion in

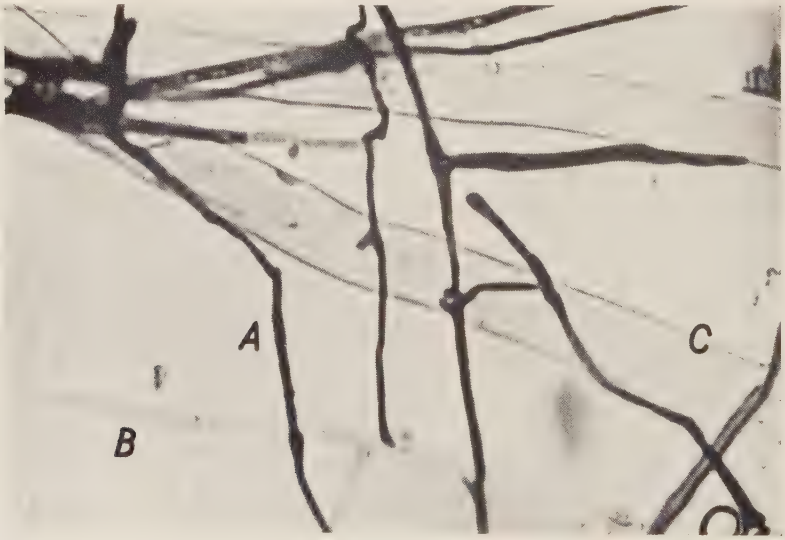


Abb. 12. Zerfall der *Ophiobolus*-Hyphen: *Didymella exitialis* herrscht vor. A = *Didymella exitialis*. B = abgestorbene *Ophiobolus*-Hyphen. C = Wurzelhaar. Vergr. 520×

seiner Entwicklung begrenzt und dadurch der parasitische Erfolg vermindert wird. Während in der Literatur Beispiele für eine Reduktion der Pathogenität von *Ophiobolus graminis* als Folge von mikrobiellem Antagonismus verhältnismäßig häufig sind (vgl. GARRETT 1956), finden sich Beobachtungen über pilzlichen Parasitismus auf *Ophiobolus graminis* selten. Einzig SLAGG und FELLOWS (1947) stellten fest, daß *Trichoderma viride* Pers. bei Mischkulturen auf Kartoffelagar in die Hyphen von *Ophiobolus graminis* hineinwächst und sie abtötet.

II. Nährstoffkonkurrenz zwischen den Erregern

FLÜCK (1955) versuchte, die im Vergleich zu den Mischinfektionen geringere oder fehlende Depression bei seinen Infektionsversuchen mit Mischkulturen so zu deuten, daß Vitalität und Konkurrenzvermögen von *Didymella exitialis* im Laufe der Mischkultur infolge Nahrungskonkurrenz vermindert werden. Bei den eigenen Infektionsversuchen mit frischen Erregergemischen und Mischkulturen trat nie ein wesentlicher Unterschied in der Befallshöhe auf (Tab. 1); Mischkultur- und Mischinfektionen zeigten stets den Reaktionstypus „Depression". Diese Resultate und die Tatsache, daß *Ophiobolus graminis* sehr empfindlich auf Veränderungen in der Nährstoffzusammensetzung seiner Kulturlösung reagiert (vgl. Abb. 1), legten die Vermutung näher, dieser Erreger selbst werde zuerst durch derartige Schwankungen beeinflußt; dies um so eher, als der Verlauf der Erkrankungen primär von *Ophiobolus graminis* als dem stärkeren Mischinfektionspartner abhängt und sich im weiteren die Ernährungslage bestimmend auf die parasitische Eignung eines Erregers auswirkt (GÄUMANN 1951).

Dabei muß nicht unbedingt eine eigentliche Nahrungs-Konkurrenz vorliegen. Auch eine positive Beeinflussung des Nährstoffgleichgewichtes, zum Beispiel durch Ausschüttung organischer oder anorganischer Verbindungen durch *Didymella exitialis*, könnte die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* ändern. In diesem Sinne möchten wir auch den Titel dieses Abschnittes aufgefaßt wissen.

Eine Beobachtung legte die Idee solcher Nährstoffbeziehungen — wenigstens hinsichtlich des Stickstoffes — als mögliche zusätzliche Depressionsursache neben dem direkten Parasitismus nahe: Die Krankheitsindizes von *Ophiobolus graminis* weisen, aufgetragen in Abhängigkeit von der der Vorkultur zugesetzten Stickstoffmenge, ein Maximum bei einer Zugabe von 0,15 g/l Asparagin auf (Abb. 13). Wächst der Erreger in Mischkultur oder bei der Mischinfektion mit *Didymella exitialis* zusammen, so steht ihm — infolge Nahrungskonkurrenz — weniger Stickstoff zur Verfügung. Auf Grund der Kurve müßte das bei der verwendeten Asparaginkonzentration von 1,2 g/l eine Erhöhung der Pathogenität zur Folge haben. Statt dessen verringert sich der Infektionserfolg. Dafür sind zwei Erklärungen möglich:

1. *Didymella exitialis* produziert Stoffe, die für *Ophiobolus graminis* einer Vermehrung der Asparaginmenge gleichkommen und somit pathogenitätsvermindernd wirken.

2. Die zur Verfügung stehenden Asparaginmengen sind suboptimal, d. h. sie liegen auf der steigenden Hälfte der Pathogenitätskurve (Abb. 13). Durch Stickstoffkonkurrenz von *Didymella exitialis* wird die Pathogenität reduziert.

Beim Zutreffen der zweiten Annahme müßte sich die Anwesenheit von *Didymella exitialis* in der Mischkultur dahin auswirken, daß die *Ophiobolus graminis* noch zur Verfügung stehende Asparaginmenge unter 0,03 g/l sinkt.

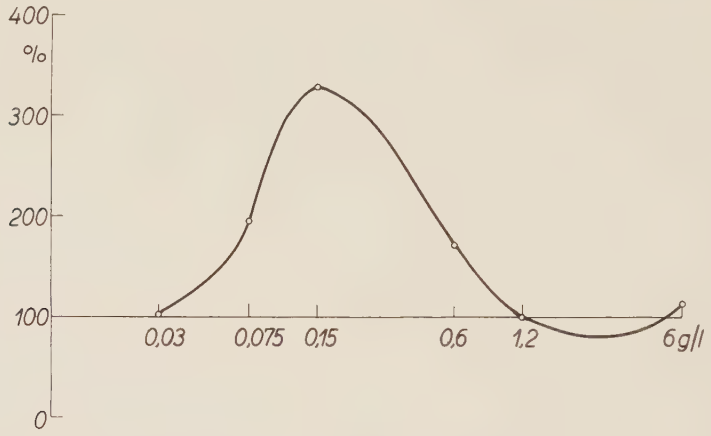


Abb. 13. Einfluß steigender Mengen von Asparagin auf die Pathogenität von *Ophiobolus graminis*. Abszisse: Logarithmus der Asparaginkonzentration. Ordinate: Relative Krankheitsindizes nach 15 Tagen

Angesichts der verhältnismäßig kurzen gegenseitigen Einwirkungszeit ist dies bei einer Ausgangskonzentration von 1,2 g/l unwahrscheinlich. Damit wird Punkt 2 hinfällig. Es bleibt die Erklärung, daß *Didymella exitialis* Stoffe ausscheidet, die eine Vermehrung der Asparaginmenge bedeuten und damit die Befallsdepression verursachen.

Es sind mehrere Beispiele von Pilzen bekannt, die Stickstoffverbindungen ins umgebende Medium abgeben; nachgewiesen wurden vor allem Aminosäuren (Murray und Zscheile, 1956, McAnelly 1959, Close 1960, u. a.), seltener Polypeptide (Morton 1951, Morton und Broadbent 1955).

Versuchsfrage: Scheidet *Didymella exitialis* ins Kulturfiltrat Aminosäuren aus und vermögen diese die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* zu beeinflussen?

In der Kulturlösung von *Didymella exitialis* konnten neben Asparagin weitere fünf freie Aminosäuren und zwei nicht identifizierte ninhydrinpositive Substanzen nachgewiesen werden (Tab. 8).

Die Prüfung eines möglichen Einflusses solcher von einem Erreger ausgeschiedenen Aminosäuren auf seinen Mischinfektionspartner mußte methodisch in grober Näherung an die wirklichen Verhältnisse vorgenommen werden. So wurde *Ophiobolus graminis* unter Weglassung von *Didymella exitialis* in Vorkulturen mit den zu testenden Substanzen gezüchtet. Die unterschiedliche Dauer

Tabelle 8

Von *Didymella exitialis* ins Kulturfiltrat ausgeschiedene freie Aminosäuren

Aminosäure	Konzentration in mg/l
Asparagin	167
Asparaginsäure	14,6
Glutaminsäure	10,3
Alanin	2,8
Leucin	1,8
Valin	1,3
x*)	—
y**)	—

*) R_f-Werte 0,16 (n-Butylalkohol-Eisessig-Wasser 4 : 1 : 5)
0,03 (Phenol)
**) R_f-Werte 0,49 (n-Butylalkohol-Eisessig-Wasser 4 : 1 : 5)
0,07 (Phenol)

der gegenseitigen Einflußnahme beider Pilze bei Infektionen mit der Mischkultur und Mischinfektionen blieb unberücksichtigt. Dadurch wird ja auch der Erfolg der Infektion nicht verändert. Der weitere Einfluß von *Didymella exitialis* auf *Ophiobolus graminis* nach erfolgter Infektion mußte ebenfalls vernachlässigt werden, da Zusätze zum Infektionsmedium möglicherweise nicht erfaßbare, unerwünschte Reaktionen des Wirts zur Folge gehabt hätten: Die Infektion sollte einzig die Rolle des biologischen Tests spielen.

Im nachfolgenden Infektionsversuch war die Asparaginmenge der Vorkultur von 1,2 g/l auf 0,15 g/l herabgesetzt worden. Da diese Konzentration gemäß Abbildung 13 einen maximalen *Ophiobolus*-Befall bedingt, war zu erwarten, daß der Erreger auf deren allfällige Veränderungen am empfindlichsten reagiert. Um den störenden Asparagingehalt des Impfmaterials möglichst niedrig zu halten, erfuhr die als Inokulum vorgesehene Myzelsuspension in allen diesen Versuchen eine zehnfache Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung, bevor sie in einer Menge von je einem Milliliter auf die Vorkulturkolben verteilt wurde.

Der Infektionsversuch mit der Zugabe der Aminosäurefraktionen des *Didymella*-Kulturfiltrates zur Vorkultur von *Ophiobolus graminis* ergab relative Befallssenkungen von rund 40 % (Tab.9). Die mit Dowex 2 entsalzte Fraktion enthielt das gesamte Aminosäurespektrum des Kulturfiltrates (siehe Tab. 8), wogegen im Dowex 50-Eluat nur Asparagin und Asparaginsäure nachzuweisen waren. Die Testkonzentrationen entsprachen einer Zugabe von 100 ml *Didymella*-Kulturfiltrat zu einem Vorkulturkolben.

Aus Tabelle 9 sind auch die Resultate des Modellversuches zu ersehen, bei dem die im Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* nachgewiesenen Aminosäuren einzeln getestet wurden[1]). Vereinfachend wurden die Zugaben auf

[1]) Die Aminosäuren wurden in dankenswerter Weise von der Firma Hoffman-La Roche Co., Basel, zur Verfügung gestellt.

eine Endkonzentration von je 0,1‰ standardisiert. Bei dieser Versuchsanordnung betrug die Verminderung des Infektionserfolges noch 20 bis 30%. Eine Ausnahme machte α-Aminobuttersäure, die von *Didymella exitialis* nicht ausgeschieden wird und die die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* nur unwesentlich veränderte.

Damit war der Beweis erbracht, daß *Didymella exitialis* freie Aminosäuren ausscheidet, die in ihrer Gesamtheit eine Pathogenitätssenkung bei *Ophiobolus graminis* verursachen. Einzeln geprüft zeigen alle diese Aminosäuren dieselbe Wirkung, wenn auch in etwas abgeschwächter Form.

Tabelle 9

Einfluß der Aminosäuren aus dem Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* auf die Pathogenität von *Ophiobolus graminis*

Zusatz zur Vorkultur	Krankheitsindizes K% nach 15 Tagen
kein Zusatz	63,4
Dowex 2-Eluat	34,9
Dowex 50-Eluat	35,1
DL-Alanin	45,4
DL-Asparaginsäure	49,1
L(+)-Glutaminsäure	46,7
DL-Leucin	46,8
DL-Valin	47,2
DL-α-Aminobuttersäure	58,5
Kontrolle	0

Diese Befallsdepression könnte einer bloßen Vermehrung der Stickstoffmenge zugeschrieben werden; der Vergleich der Pathogenität von *Ophiobolus graminis* bei einer bestimmten Asparagingabe mit dem Infektionserfolg nach Zusatz von Alanin und Glutaminsäure in — bezüglich ihres Stickstoffgehaltes — entsprechender Menge sollte diese Frage klären. Gleichzeitig wurde die Basis-Stickstoffkonzentration variiert. Dabei zeigte es sich, daß die Pathogenitätssenkung auch bei 0,075 g/l Asparagin in der Vorkultur auftrat (Tab. 10). Bei einer Ausgangskonzentration von 1,2 g/l Asparagin ist der reduzierende Effekt fraglich. Ein Asparaginzusatz von 0,075 g/l zu derselben Vorkulturkonzentration ließ, wie schon aus Abbildung 13 ersichtlich, die Pathogenität ansteigen. Im Gegensatz dazu wird sie jedoch bei einer bezüglich ihres Stickstoffgehaltes entsprechenden Alanin- oder Glutaminsäure-Zugabe gesenkt: Das bedeutet, daß die *Didymella*-Aminosäuren nicht unspezifisch als einfache Erhöhung der zur Verfügung stehenden Stickstoffmenge wirksam werden, sondern

Tabelle 10

Einfluß von Alanin und Glutaminsäure auf die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* bei verschiedenen Asparaginkonzentrationen in der Vorkultur

Asparaginkonzentration g/l	Zusatz (berechnet auf den N-Gehalt der Asparaginmenge)		Krankheitsindizes K % nach 15 Tagen
0,075		—	57,6
	0,075 g/l	Asparagin	60,4
	0,089	Alanin	48,9
	0,148	Glutaminsäure	55,5
0,15		—	60,4
	0,15 g/l	Asparagin	47,3
	0,179	Alanin	45,4
	0,295	Glutaminsäure	44,5
1,2		—	60,8
	0,15 g/l	Asparagin	58
	0,179	Alanin	57,7
	0,295	Glutaminsäure	57,3
Kontrolle			0

spezifisch auf die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* wirken.

Untersuchungen über den Mechanismus der Verminderung der parasitischen Leistungsfähigkeit von *Ophiobolus graminis* durch die *Didymella*-Aminosäuren können von zwei Annahmen ausgehen: Entweder liegt ein physiologischer Effekt vor, d. h. die Aminosäuren beeinflussen auf irgendeine Art den Bau- oder Betriebsstoffwechsel des Erregers, oder aber sie wirken selektiv. Das würde voraussetzen, daß *Ophiobolus graminis* ein Gemisch von Saltanten darstellt, die verschieden stark pathogen sind.

Ophiobolus graminis bildet an der Wirtsoberfläche dunkelbraune sogenannte Laufhyphen, von denen aus die farblosen, eigentlich parasitischen Infektionshyphen in die Wurzel getrieben werden (z. B. Winter 1944). Vorbedingung für das Infektionsvermögen des Pilzes ist das Wachstum der Laufhyphen, die dann die Ausbildung der parasitierenden Hyphen an verschiedenen Stellen des Wirts und somit die Besiedlung desselben erst ermöglichen. Unter natürlichen Umständen besteht unzweifelhaft ein Zusammenhang zwischen dem Laufhyphenwachstum und der Pathogenität des Erregers.

Es wäre nun naheliegend, daß sich eine mögliche physiologische Wirkung der *Didymella*-Aminosäuren in einer Hemmung der Laufhyphenentwicklung äußerte. Entsprechend führte Flück (1955) den

pathogenitätssteigernden Effekt von Aneurin auf deren Förderung zurück. Die Wachstumsmessungen mit der Aufwuchsplattenmethode, die mit den natürlichen Gegebenheiten an der Wirtsoberfläche am ehesten übereinstimmt, ergaben jedoch ein anderes Bild (Tab. 11): Alle geprüften Aminosäuren verursachten eine ausgeprägte Steigerung des Laufhyphenwachstums, während sie sich in bezug auf das Myzeltrockengewicht — mit Ausnahme von Glutaminsäure und Alanin — indifferent (Valin) oder reduzierend (Leucin) verhielten.

Durch die nur unwesentliche Veränderung der Myzeltrockengewichte bleiben auch die Inokulummengen und damit die Anzahl der durch sie ermöglichten Angriffspunkte des Parasiten auf den Wirt mehr oder weniger unbeeinflußt. Widersprüchlich erscheint jedoch vorläufig das Verhalten der Laufhyphen, die sich extramatrikal von diesen Angriffspunkten her ausbreiten und „sekundär" manifeste Schädigungen — durch Aussenden von Infektionshyphen — verursachen: Ihre massive Förderung durch die Aminosäuren müßte eigentlich ein Ansteigen der Pathogenität von *Ophiobolus graminis* nach sich ziehen. Daß Wurzelausscheidungen des Wirts hier nicht etwa hemmend wirken, zeigen die Resultate der Wachstumsmessungen, die nach Zusatz solcher Exsudate zum Testmedium durchgeführt wurde (siehe auch Tab. 11). Die Wurzelsekrete, gewonnen nach der bei KALYANASUNDARAM (1958) beschriebenen Methode, wurden in Mengen, die etwa der Ausbeute dreier Keimlingswurzeln entsprachen, auf je eine Aufwuchsschale verteilt. Sie enthielten neben Glukose verschiedene ninhydrinpositive Stoffe.

Tabelle 11

Einfluß der Aminosäuren aus dem Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* auf das Laufhyphenwachstum und das Myzeltrockengewicht von *Ophiobolus graminis*

Aminosäurezusatz ad 0,15 g/l Asparagin (berechnet auf den entsprechenden N-Gehalt)	Laufhyphenwachstum in mm		Myzeltrockengewichte in mg nach 12 Tagen
	nach 6 Tagen	nach 12 Tagen	
—	4,5 (4,8)	8,1 (*)	15,1
Alanin	7,2 (7,6)	* (*)	18,6
Glutaminsäure	9,8 (7,9)	* (*)	19,5
Leucin	5,0 (6,6)	* (*)	9,0
Valin	5,7 (6,1)	* (*)	14,7

* = Objektträger überwachsen, d. h. Radius > 15 mm.
() = Zusatz von Weizenwurzelsekreten.

Die umgekehrte Proportionalität zwischen dem Laufhyphenwachstum und der Pathogenität beruht wohl einfach auf der durch die zugesetzten Aminosäuren bedingten besseren Ernährung der Laufhyphen. Dadurch erübrigt es sich für sie, Infektionshyphen, die normalerweise ihre Nährstoffzufuhr besorgen,

auszusenden. Entsprechend bilden auch die Keimschläuche von *Erysiphe graminis hordei* DC. im Modellversuch auf ausgelaugten Zwiebelschuppen bei Anwesenheit von Glukose und Hefeextrakt keine Haustorien, wohl aber, wenn sie nur von Wasser umspült werden (Hirata 1955).

Obwohl die beschriebenen Versuche die natürlichen Verhältnisse nur sehr vereinfachend darstellen, muß die Annahme, die Wirkung der *Didymella*-Aminosäuren gehe einfach über das Laufhyphenwachstum von *Ophiobolus graminis*, fallengelassen werden.

Die Hypothese einer Selektion einzelner *Ophiobolus*-Saltanten durch die Aminosäuren wurde dadurch gestützt, daß der Erreger unter noch nicht geklärten Bedingungen auf Malzagarplatten sektorenweise mit einem dunkelgefärbten Habitus und geringerer Pathogenität entmischen kann. Weiter ist seine Pathogenität sehr labil. Sie geht bei längerer Laborkultur verloren, kann aber mit einer Kultivierung auf Stroh oder ähnlichem regeneriert werden.

Es wurde angenommen, *Ophiobolus graminis* umfasse ein Gemisch einerseits von Stämmen des so benannten „Wildtypus", begünstigt durch die Strohkultur oder die normal verwendete synthetische Nährlösung, und solchen, die von gewissen Aminosäuren gefördert werden oder von ihnen abhängig sind. Diese würden nicht „mutagen", sondern selektiv auf die früher — vielleicht während der Kultur auf Malzagar — spontan entstandenen Saltanten wirken. Ist bei der Infektion die betreffende Aminosäure vorhanden (beispielsweise ausgeschieden durch *Didymella exitialis*), so entwickelt sich der schwächer pathogene Aminosäure-Typus auf Kosten des Wildtypus. Bei Fehlen der fraglichen Aminosäure vermag nur das Wildtypus-Myzel den Wirt zu besiedeln, was einen starken Befall zur Folge hätte.

Durch mehrmaliges Übertragen des Erregers auf Nährmedien, denen die fragliche Aminosäure zugesetzt worden war, müßte sich der Wildtypus-Anteil vermindern und der betreffende Aminosäure-Typus sich anreichern lassen, was ein allmähliches Absinken der Infektionsrate zur Folge hätte. So gelingt es zum Beispiel, die Pathogenität von *Helminthosporium sativum* P. K. et B. mit einigen Passagen auf Medien, die gewisse Aminosäuren enthalten, völlig aufzuheben (Hrushovetz 1957). Im entsprechenden Versuch mit *Ophiobolus graminis* wurden die Aminosäuren Alanin, Glutaminsäure, Leucin und Valin geprüft. Ihr Zusatz zur synthetischen Nährlösung erfolgte derart, daß ihr Stickstoffgehalt wiederum mit dem der Asparaginausgangskonzentration übereinstimmte. Nach jeweils 14 Tagen (bei den Strohkulturen wegen der geringeren Wachstumsgeschwindigkeit nach 28 Tagen) wurde der Erreger in ein frisches Medium von der gleichen Zusammensetzung übertragen und gleichzeitig seine Pathogenität festgestellt. Mit dieser verhielt es sich wie folgt (Abb. 14): Während Zugaben von Alanin und Leucin die Befallshöhe auf dem Stand der ersten Passage mehr oder weniger unverändert lassen, reduzieren sie Glutaminsäure und Valin mit einem auffallenden Minimum nach der zweiten Passage, um sie dann wieder ansteigen zu lassen. Nach dem siebenten Überimpfen entsprechen die Pathogenitätswerte der Versuchsreihen mit den beiden letzt-

genannten Aminosäuren, wie auch der mit Leucin, beinahe dem normalen *Ophiobolus*-Befall. Auf den beiden Grundmedien — der synthetischen Nährlösung ohne Zusatz und der Strohkultur — sinkt die Pathogenität stark ab, nimmt aber dann ebenfalls wieder langsam zu.

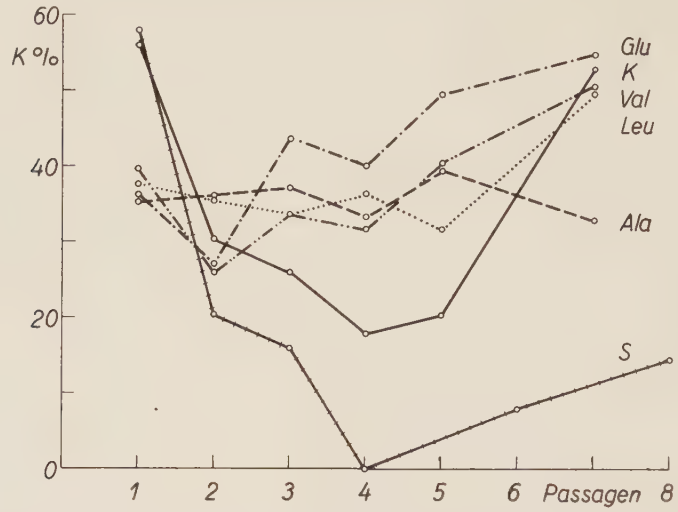


Abb. 14. Einfluß von Aminosäuren auf die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* bei mehrmaligem Überimpfen des Erregers auf das gleichartige Nährmedium. Asparaginkonzentration der Vorkultur 0,15 g/l, Aminosäurezusätze berechnet auf einen entsprechenden Stickstoffgehalt. Abszisse: Anzahl Passagen. Ordinate: Krankheitsindizes nach 15 Tagen. Kurve K: kein Aminosäurezusatz. Kurve S: Strohkulturen. Übrige Kurven Zugabe von Alanin (Ala), Glutaminsäure (Glu), Leucin (Leu) und Valin (Val)

Dieses Ansteigen der Befallskurven nach einigen Passagen, selbst nach einem völligen Erlöschen der Pathogenität bei den Strohkulturen, läßt die Hypothese eines einfachen Selektionsvorganges als fraglich erscheinen. Da keines der beiden Grundmedien die anfängliche Befallshöhe halten oder gar steigern konnte, fehlt ja auch der Beweis für das Vorhandensein eines Wildtypus-Myzels. Ihr Einfluß geht wohl eher dahin, daß sie durch einseitige Ernährung oder Überfütterung des Erregers mit ihren im Überschuß vorhandenen Nährstoffen diesen an die saprophytische Lebensweise gewöhnen. Dadurch verliert er im Laufe der Passagen seine Pathogenität und die Fähigkeit zur Cellulasebildung, von der das Überleben unter natürlichen Umständen abhängt (Abb. 16). Diese Erscheinungen sind nicht neu (GÄUMANN 1951). Mit zunehmender Anzahl Überimpfungen stellt der Pilz seinen Stoffwechsel jedoch auf die künstliche Ernährung ein und gewinnt seine Pathogenität wieder. Dies äußert sich auch deutlich im Ansteigen der Cellulaseaktivität der Kulturfiltrate nach der zweiten Passage (Abb. 16).

Die Aminosäuren machen einen noch unbekannten zusätzlichen Einfluß zu demjenigen der Grundmedien auf die Pathogenität geltend. Offenbar zwingen sie den Pilz dadurch früher zur Reaktion, so daß die Befallshöhe um

einen geringeren Betrag abnimmt und schneller wieder ansteigt als bei der Versuchsreihe ohne Aminosäuren. Wird Alanin zugesetzt, so gelingt die Anpassung innerhalb der angewandten Versuchsdauer allerdings nicht.

Eine Bestätigung dafür, daß *Ophiobolus graminis* sich an die durch die *Didymella*-Aminosäuren geschaffenen neuen Bedingungen anpaßt, stellt der Infektionsversuch mit dem adaptierten Erreger dar (Abb. 15): Die Reduktion der Befallsstärke bei Mischinfektionen mit *Ophiobolus graminis*, der z. B. siebenmal auf einem glutaminsäure- oder valinhaltigen Nährmedium überimpft wurde, ist weniger ausgeprägt als diejenige bei Mischinfektionen mit dem unbehandelten Erreger.

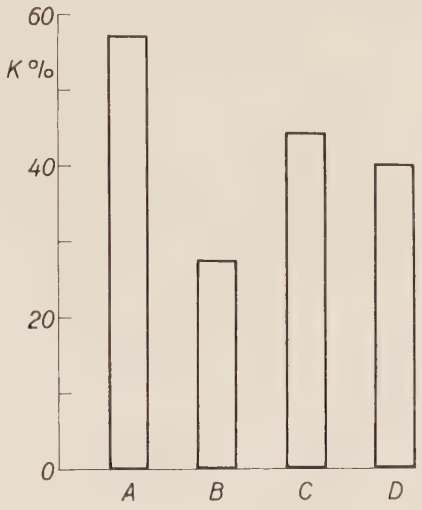


Abb. 15. Einfluß der Passagen von *Ophiobolus graminis* auf Glutaminsäure- und Valin-haltigen Nährlösungen auf den Erfolg der Mischinfektion mit *Didymella exitialis*. Ordinate: Krankheitsindizes nach 15 Tagen. A: *Ophiobolus graminis* allein. B: Mischinfektion: *Ophiobolus graminis* unbehandelt. C: Mischinfektion: *Ophiobolus graminis* nach sieben Glutaminsäurepassagen. D: wie C, aber nach sieben Valinpassagen

Obwohl die Passageversuche zur Klärung des eigentlichen Mechanismus der Pathogenitätssenkung durch die Aminosäuren nicht unmittelbar beitragen, ermöglichen sie es doch, Rückschlüsse auf deren Wirkungsweise zu ziehen. Der Adaptionsvorgang deutet auf eine Beeinflussung des Enzymhaushaltes von *Ophiobolus graminis* durch die Aminosäuren hin, etwa in dem Sinne, daß z. B. Alanin die Cellulasebildung des Erregers hemmt, dieser aber nach einer gewissen Zeit befähigt wird, den Ausfall auf irgendeine Art zu überbrücken. Allerdings scheint die betreffende Aminosäure nicht direkt in die Cellulaseproduktion des Pilzes einzugreifen; die Abnahme der Cellulasemenge im Kulturfiltrat nach der ersten Passage ist wohl eher die Folge der durch den Alaninzusatz bedingten Zunahme der Myzelmasse (Abb. 16). Dadurch wird die verfügbare Stickstoffmenge zum Aufbau des Myzels verbraucht, so daß für die Herstellung des Enzyms nur mehr wenig Stickstoff frei ist. Der eigentliche Adaptionsvorgang erklärt sich vermutlich durch einen nach der zweiten Passage beginnenden Alaninabbau zugunsten der Enzymproduktion, was ein Ansteigen des Cellulasespiegels im Kulturfiltrat, ohne daß der Baustoffwechsel berührt wird, nach sich zieht (Abb. 16).

Diese mutmaßlichen Zusammenhänge wurden am Beispiel des Alaninzusatzes diskutiert, weil hier die Resultate am übersichtlichsten und eindeutigsten ausfielen. Bei den übrigen Aminosäuren scheinen ähnliche Verhältnisse

vorzuliegen. Offenbar geht die Beeinträchtigung der parasitischen Eignung von *Ophiobolus graminis* durch die *Didymella*-Aminosäuren über seinen Stickstoff-Stoffwechsel. Wieweit dabei Störungen des Enzymhaushaltes, besonders der Cellulaseproduktion, beteiligt sind, müssen tiefergehende biochemische Arbeiten aufzeigen.

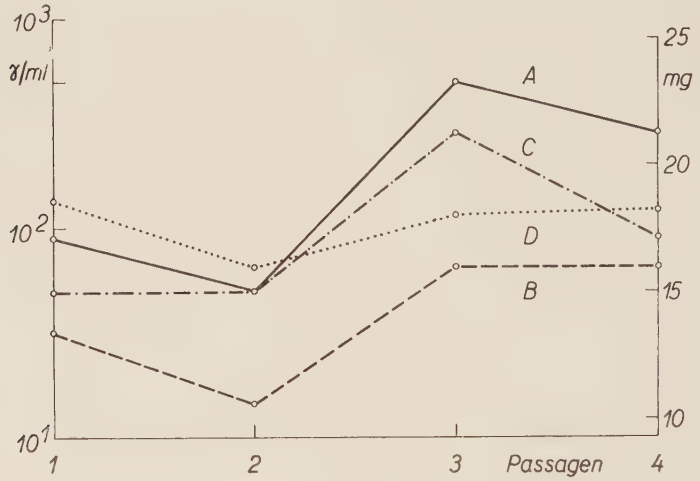


Abb. 16. Einfluß von Alanin auf die Cellulaseproduktion und die Myzeltrockengewichte von *Ophiobolus graminis* bei mehrmaligem Überimpfen des Erregers auf das gleichartige Nährmedium. Abszisse: Anzahl Passagen. Ordinaten: Logarithmus der Standardkonzentration (Kurven A und C) bzw. Myzeltrockengewichte (Kurven B und D). Kurve A: Cellulaseaktivität bei Passagen ohne Aminosäurezusatz. Kurve B: Myzeltrockengewichte dazu. Kurve C: Cellulaseaktivität bei Zusatz von Alanin. Kurve D: Myzeltrockengewichte dazu

D. DIE VERSCHIEBUNG DER KRANKHEITSBEREITSCHAFT DES WIRTES

Es besteht die Möglichkeit, daß *Didymella exitialis* bei der Mischinfektion die Ophiobolose-Depression nicht nur durch eine Beeinträchtigung der parasitischen Eignung von *Ophiobolus graminis*, sondern auch über eine Veränderung der Disposition des Wirts verursacht. Das hätte man sich so vorzustellen, daß *Didymella exitialis* als Primärinfekt die Wirtspflanze zu einer Erhöhung ihrer Abwehrbereitschaft gegenüber einer Folgeinfektion durch *Ophiobolus graminis* veranlaßt.

Ein derartiger Einfluß von *Didymella exitialis* auf das parasitische Verhältnis zwischen *Ophiobolus graminis* und dem Wirt müßte sich in der Auslösung von antiinfektionellen Abwehrreaktionen im Wirtsgewebe äußern. Antitoxische Abwehrreaktionen sind — obwohl in der Auswirkung ähnlich (GÄUMANN 1951) — nicht zu erwarten, da das Vorhandensein eines *Ophiobolus*-Toxins unwahrscheinlich ist (LUDBROOK 1942) oder wenigstens bis anhin nicht bewiesen wurde. Bei solchen Reaktionen kann es sich um einen biochemischen, stofflichen Schutz handeln, oder dann wird eine morphologische

Barriere errichtet. In ihrer Wirkung stimmen sie jedoch überein: Sie würden den Befall durch den Superinfekten herabsetzen, ihn im Gewebe lokalisieren oder zumindest in seiner Ausbreitung einschränken.

Buxton und Perry (1959) beobachteten eine Abschwächung der durch *Fusarium oxysporum* f. *pisi* (Linf.) Snyder et Hansen verursachten Erbsenwelke, wenn sie gleichzeitig mit dem Welkeerreger den Wirt mit *Fusarium solani* f. *pisi* (Jones) Snyder et Hansen infizierten. Dafür machte Perry (1959) von ihm im Wirtsgewebe nachgewiesene Stoffe verantwortlich, deren Bildung durch *Fusarium solani* ausgelöst wird, und die gegen *Fusarium oxysporum* hemmend wirken. Derartige stoffliche Abwehrreaktionen gegen *Ophiobolus graminis* ließen sich in Weizengeweben, die mit *Didymella exitialis* infiziert waren, nicht nachweisen: Die Wurzeln und Halmbasen von 15 Tage alten, von *Didymella exitialis* befallenen Weizenpflanzen wurden homogenisiert (Potter und Elvehjem 1936) und die wässerigen Extrakte auf Malzagarplatten auf ihre Hemmwirkung gegen *Ophiobolus graminis* untersucht. Dabei konnte kein Hemmeffekt festgestellt werden, auch nicht bei direktem Auslegen von Pflanzenteilen, die mit *Didymella exitialis* infiziert waren, vor die Myzelfront des Testpilzes.

Diese Versuche, zusammen mit ihren ebenfalls negativ ausgefallenen Kontrollreihen, schließen im weiteren die Möglichkeit eines Ansteigens der Wirtsresistenz gegen *Ophiobolus graminis* auf Grund rein mechanischer Schädigung durch den Mischinfektionspartner aus. Unter Anwendung ähnlicher Methoden hatten Spencer und Mitarbeiter (1957) in Wurzeln von *Vicia faba* L. das Vorhandensein antifungischer Stoffe als Folge mechanischer Verletzung festgestellt.

Mit Hilfe mikroskopischer Untersuchungen und Mikroreaktionen an Wurzelquerschnitten wurde versucht, die Frage nach induzierten morphologischen Abwehrreaktionen des Wirts zu klären. Eine Beschränkung auf Wurzeln erfolgte nicht nur deswegen, weil hier die Besiedlung der Gewebe durch die Erreger nach Ablauf der gegebenen Versuchsdauer von 15 Tagen weiter fortgeschritten war als die der Halmbasen, sondern auch wegen der gegenüber dem Halm ausgeprägteren Reaktionen der Wurzeln auf die *Ophiobolus*-Infektion (s. u.).

Didymella exitialis kann die Wurzelepidermis, nicht aber die Rinde besiedeln. Als Folge des Eindringens der Pilzhyphen wurden weder nekrogene Abwehrreaktionen noch Demarkationsgewebe festgestellt, beide hätten die Erkrankungsdisposition gegenüber *Ophiobolus graminis* herabsetzen können.

Es blieb noch die Frage zu klären, ob *Didymella exitialis* als Primärinfekt den Wirt zu den gleichen Reaktionen veranlaßt, die als Folge einer *Ophiobolus*-Infektion auftreten: Die Membranen der Zellen, die von *Ophiobolus*-Hyphen durchbohrt werden oder auch nur mit dem parasitischen Myzel in Berührung kommen, nehmen an Dicke zu. Ihr Gehalt an Zellulose reduziert sich; dafür werden Lignin und Suberin eingebaut. Beim Auftreffen einer Hyphe auf eine Zellwand läßt sich auf der Gegenseite auch häufig die Entstehung eines stumpfen Vorsprunges beobachten, der sich zu einem fingerförmigen Lignin-

tuber vergrößert und nicht selten die einwachsende Hyphe abkapselt. Diese Feststellungen, wie auch der Befund, daß die Lignituber aus Lignin und geringen Mengen Suberin bestehen, stimmen mit denen von FELLOWS (1928) überein.

Die Anlage solcher Wandverdickungen und Lignituber vor dem eigentlichen Eindringen der parasitischen Hyphen in die betreffende Zelle, also auf einen von diesen ausgehenden Reiz hin, legt die Deutung dieser Erscheinungen als eine Abwehrreaktion des Wirts nahe. Dafür spricht auch der Umstand, daß Zellen mit Hilfe solcher Veränderungen ihrer Membranen das weitere Vordringen einzelner Hyphen unterbinden können. Beide Beobachtungen werden bestätigt durch die Versuche von ZWILLENBERG (1959), wonach bei Epidermiszellen von Weizen und anderen resistenten Wirtspflanzen durch Appressorien von *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. die Bildung keilförmiger Wandverdickungen ausgelöst wird, ohne daß ein eindeutiges Eindringen des Parasiten über die Kutikula hinaus ins Blattgewebe erfolgte. Auch auskeimende Sporen von *Helminthosporium victoriae* Meeh. et Murphy induzieren Verdichtungen und Farbänderungen der nächstgelegenen Zellwand- und Plasmapartien bei resistenten Hafersorten (PADDOCK 1953).

Neben *Ophiobolus graminis* und *Colletotrichum graminicola* lösen auch andere Parasiten in Zellen von Weizenpflanzen derartige plasmatische Abwehrreaktionen aus (YOUNG 1926). Bei Infektionen mit *Didymella exitialis* ließen sie sich dagegen nie feststellen. Ebensowenig konnten Veränderungen in der Zusammensetzung der Membranen von Zellen, die mit diesem Erreger befallen waren oder die an solche angrenzten, beobachtet werden; diese Untersuchungen erstreckten sich auf den Nachweis von Lignin- oder Suberineinlagerungen sowie von Pektin- und Kallosebildungen.

Mit *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* gleichzeitig infizierte Wurzeln zeigten im Querschnitt das normale mikroskopische Bild des *Ophiobolus*-Befalls: Auch hier fehlten Ansatzpunkte, die auf eine Verschlechterung der Disposition der Weizenpflanze gegenüber *Ophiobolus graminis* hindeuten könnten. Damit mußte die Annahme, *Didymella exitialis* beeinflusse den *Ophiobolus*-Befall indirekt über eine Verschiebung der Reaktionslage des Wirts, fallengelassen werden.

E. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Der vorliegenden Arbeit über die Ursachen der Depression bei Mischinfektionen mit *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* wurden zwei Hypothesen zugrunde gelegt: *Didymella exitialis* vermindert die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* direkt durch eine Beeinträchtigung seiner parasitischen Leistungsfähigkeit, oder sie wirkt indirekt über die Disposition des Wirts auf den Erfolg der Infektion mit dem Fußkrankheitserreger. In der Folge erwies sich die zweite Erklärungsmöglichkeit als unzutreffend. Dabei wurden aller-

dings nur die vornehmlich die Infektionsdisposition des Wirts betreffenden Fragen eingehender betrachtet, während die Probleme einer Veränderung der Erkrankungsdisposition durch eine *Didymella*-Primärinfektion nicht näher untersucht wurden. Da Weizenkeimlinge gegen *Ophiobolus graminis* im Laufe ihrer Entwicklung immer weniger anfällig werden (Flück 1955), wäre eine Herabsetzung der Wirtsdisposition als Folge einer durch *Didymella exitialis* verursachten Wachstumssteigerung nach Art des Bakanaë-Effekts (Gäumann 1951) denkbar. Wohl fördert das *Didymella*-Myzel das Wurzelwachstum in geringem Maße, doch reicht der Einfluß für eine beträchtliche Stimulation der Wirtspflanze zu einem schnelleren oder kräftigeren Gesamtwuchs nicht aus. Weil im weiteren keine offensichtlich raschere Besiedlung des Wirts durch *Didymella exitialis* beobachtet werden konnte, würde jenem auch zu wenig Zeit zu einer derartigen Reaktion bleiben.

Auf einen präinfektionellen direkten Einfluß von *Didymella exitialis* auf *Ophiobolus graminis* deuten auch die äußeren Symptome der mit dem Erregergemisch infizierten Pflanzen hin, die sich vom Aussehen der an Ophiobolose erkrankten durch eine größere Unregelmäßigkeit der Schwärzung unterscheiden (siehe Abbildung bei Flück l. c.): Kurze, stark befallene Wurzelabschnitte — die sich nicht unbedingt an der Wurzelbasis befinden müssen — wechseln mit Teilen geringeren Befalls. Die Halmbasen sind fast durchweg gesund. *Ophiobolus*-Infektionen zeigen dagegen eine von der Basis ausgehende ununterbrochene Schwärzung von Wurzeln und Stengel, die bei einer Änderung der Reaktionslage des Wirts bei der Mischinfektion eher gleichmäßig abgeschwächt wurde.

Es gelang, zwei Depressionsursachen nachzuweisen. *Didymella exitialis* parasitiert in der Rhizosphäre auf den Hyphen von *Ophiobolus graminis*. Diese Tatsache basiert auf den Beobachtungen, daß *Ophiobolus*-Myzel häufig von einer Fülle parasitischer Hyphen umwunden ist (Abb. 10) und daß *Didymella exitialis* einzelne Zellwände durchbricht (z. B. Abb. 6), in den Wirtsthallus hineinwächst und sich in dessen Innern weiterentwickelt (Abb. 7 und 8). Als Folge davon sterben die Hyphen von *Ophiobolus graminis* ab und zerfallen (Abb. 9). Dieser Zerstörungsmodus unterscheidet sich von dem durch Weindling (1932) bei *Trichoderma viride* Pers. beobachteten Phänomen. Durch Ausscheidung antibiotischer Stoffwechselprodukte tötet dieser Bodensaprophyt und fakultative Parasit fremdes Pilzmyzel meist auf Distanz ab, ohne mit ihm in direkten Kontakt zu treten. Im Gegensatz dazu ist bei *Didymella exitialis* eine unmittelbare Berührung mit den Hyphen von *Ophiobolus graminis* notwendig, um deren Zerstörung zu erreichen.

Inwieweit das parasitische Verhältnis durch Ernährungs- und andere Umweltfaktoren beeinflußt wird, ist noch unbekannt; jedoch konnten parasitierende *Didymella*-Hyphen in Mischkultur auf Malzagar und in der synthetischen Nährlösung nur selten beobachtet werden, so daß für den parasitischen Befall ein Minimum an bestimmten Nährstoffen notwendig

zu sein scheint. Dies erklärt auch den fehlenden Unterschied im Ausmaß der Depression bei Infektionen mit Mischkulturen und Mischinfektionen. Während die parasitischen Beziehungen in der nährstoffreichen Vorkultur selten nachzuweisen sind, treten sie erst im Infektionsmedium deutlich in Erscheinung, in dem vor allem Kohlenstoff und Vitamine — die in geringer Menge von den Wirtswurzeln ausgeschieden oder dem Erreger erst durch Zellaufschluß zugänglich werden — nicht mehr im Überschuß vorhanden sind. Somit bleibt die Dauer des parasitischen Einwirkens von *Didymella exitialis* auf *Ophiobolus graminis* bei beiden Infektionsarten — ungeachtet einer vorgängigen Mischkultur — praktisch gleich.

Die Tatsache, daß mit zunehmender Einwirkungsdauer der von *Didymella exitialis* ausgeschiedenen Aminosäuren auf *Ophiobolus graminis* nicht auch der Umfang der Pathogenitätssenkung ansteigt, läßt sich noch nicht eindeutig erklären. Diese Aminosäuren — Asparaginsäure, Alanin, Glutaminsäure, Leucin, Valin, sowie zwei nicht identifizierte — wurden im Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* nachgewiesen und verursachen, wenn sie der Vorkultur von *Ophiobolus graminis* einzeln oder gesamthaft zugesetzt werden, eine Verminderung der Pathogenität des Erregers. Sie stellen somit eine zweite Depressionsursache dar. Die bei *Ophiobolus graminis* nach Zusatz der Aminosäuren eintretende Schädigung oder Störung scheint sich sofort auszuwirken, und die für die Anpassung des betroffenen Organismus notwendigen Umstellungen im Stoffwechsel benötigen eine über die Dauer der Vorkultur hinausgehende Zeitspanne. Diese letzte Vermutung wird durch den Verlauf der Pathogenitätskurven bei mehreren Überimpfungen des Parasiten auf aminosäurehaltige Nährlösungen bestätigt (Abb. 14).

Im Unterschied zu den eigenen Resultaten erhielt FLÜCK (1955) in Infektionsversuchen mit Mischkulturen von *Ophiobolus graminis* und *Didymella exitialis* meistens keine Abnahme des Infektionserfolges gegenüber der Infektion mit *Ophiobolus graminis* allein. Seine Annahme, der letztere werde gegen mögliche Hemmstoffe von *Didymella exitialis* desensibilisiert oder die Vitalität dieses Pilzes nehme infolge Nahrungskonkurrenz ab, kann auf Grund der vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigt werden (siehe Abschnitt C II). Der Grund für diese Erscheinung mag eher darin liegen, daß die *Didymella*-Aminosäuren als Folge von Unterschieden oder Schwankungen in der Wasserstoffionenkonzentration der Vorkulturlösung unwirksam waren.

Am Ende des Abschnittes „Nährstoffkonkurrenz zwischen den Erregern" wurden die Gründe besprochen, die zur Annahme führten, daß die Aminosäuren über Stoffwechsel und Cellulaseproduktion von *Ophiobolus graminis* wirken. Bei *Colletotrichum lagenarium (Pass.) Sacc.* stellten DUTTA und Mitarbeiter (1960) und bei *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. BOONE et al. (1957) und KLINE et al. (1957) fest, daß Pathogenitätsverluste mit dem Verlust der Autotrophie für bestimmte Aminosäuren gekoppelt sind. Diese an künstlich erzeugten Mutanten der betreffenden Erreger gemachten Beobachtungen weisen insofern eine Parallelität zu den vorliegenden Resultaten auf, als auch dort zwischen gewissen Aminosäuren und der Patho-

genität von Pilzen ein direkter Zusammenhang besteht. Dafür spricht auch das Ansteigen der Mengen des Gesamtstickstoffes und der freien Aminosäuren Asparagin, Alanin und Serin in Weizenwurzeln, die von *Helminthosporium sativum* P. K. et B. befallen sind (Hrushovetz 1954). Ob diese Beobachtungen auch für an Ophiobolose erkrankte Wurzeln zutreffen und wieweit dies als Abwehrreaktion des Wirts gewertet werden kann, muß durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Zusammenfassung

1. Bei gleichzeitiger Infektion von Weizenkeimlingen mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller verringert sich die durch den ersten Erreger verursachte Schwarzbeinigkeit um rund 50 %. Die Infektionsversuche wurden im Gewächshaus unter sterilen Bedingungen und mit definierten Nährmedien durchgeführt.

2. Durch Untersuchungen über die gegenseitigen Beziehungen beider Erreger in vitro, in die Rhizosphäre und im Wirt wurde der Mechanismus der Pathogenitätssenkung studiert.

3. *Didymella exitialis* produziert keine antibiotischen Stoffe, die das Wachstum oder die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* in vitro hemmen. Zwischen der Kulturlösung von *Didymella exitialis* und den die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* bestimmenden Vitaminen Aneurin und Biotin besteht kein Antimetabolismus.

4. *Didymella exitialis* durchwächst und zerstört die Hypen von *Ophiobolus graminis* in der Rhizosphäre. Dieses parasitische Verhältnis ist eine Ursache der Depression bei der Mischinfektion.

5. Im Kulturfiltrat von *Didymella exitialis* konnten die freien Aminosäuren Asparaginsäure, Glutaminsäure, Alanin, Leucin und Valin, sowie zwei weitere ninhydrinpositive Substanzen nachgewiesen werden. Diese Aminosäuren reduzieren in ihrer Gesamtheit und einzeln die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* um rund 40 % bzw. um 20 bis 30 % und bilden somit eine weitere Depressionsursache.

6. Die pathogenitätssenkende Wirkung der *Didymella*-Aminosäuren beruht nicht auf einer Hemmung des Laufhyphenwachstums von *Ophiobolus graminis*. Ebensowenig liegt ein Selektionsvorgang vor. Ihr mutmaßlicher Einfluß auf die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* über den Stickstoff-Stoffwechsel und die Cellulaseproduktion wird am Beispiel des Alanins diskutiert.

7. *Didymella exitialis* veranlaßt Weizenwurzeln weder zu stofflichen noch zu morphologischen Abwehrreaktionen, die die Disposition des Wirts gegenüber dem *Ophiobolus*-Befall herabsetzen.

Summary

1. The severity of take-all, caused by *Ophiobolus graminis* Sacc., is reduced to about 50% by simultaneous inoculation of wheat seedlings with *Ophiobolus graminis* and *Didymella exitialis* (Mor.) E. Müller. The infection experiments were carried out in the greenhouse in definite culture media under sterile conditions.

2. The mechanism of pathogenicity-reduction was studied by investigations on the mutual relations between the two pathogens in vitro, in the rhizosphere and in the host.

3. *Didymella exitialis* produces no antibiotic substances which are able to inhibit growth and pathogenicity of *Ophiobolus graminis* in vitro. There is no antimetabolism between the culture solution of *Didymella exitialis* and the vitamines thiamine and biotin determining the pathogenicity of *Ophiobolus graminis*.

4. *Didymella exitialis* penetrates and destroys the hyphae of *Ophiobolus graminis* in the rhizosphere. This parasitic relation decreases the rate of disease in mixed infections.

5. In the culture filtrate of *Didymella exitialis* free amino acids (aspartic acid, glutamic acid, alanine, leucine and valine, and two other ninhydrin positive substances) have been found. These amino acids altogether are able to reduce the pathogenicity of *Ophiobolus graminis* to about 40%, single ones of them cause a reduction of 20 to 30%. In consequence there lies an additional reason for the decrease of the disease-rate.

6. The pathogenicity-reduction caused by the *Didymella*-amino acids is not based upon a growth-inhibition of the runner hyphae. It also cannot be explained as a selective effect. The influence of alanine for instance on the pathogenicity of *Ophiobolus graminis* is supposed to be connected with the N-metabolism and the cellulase production as discussed in this paper.

7. Neither chemical nor morphological defence reactions which may lower the host's disposition towards infection by *Ophiobolus graminis* are induced in the wheat roots by *Didymella exitialis*.

Herrn Prof. Dr. E. GÄUMANN, Leiter des Institutes für spezielle Botanik, danke ich für die Ermöglichung dieser Untersuchungen. Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. KERN für die stete Förderung der Arbeit.

Literaturverzeichnis

BOCKMANN, H., 1957: Schwärze, Fußkrankheiten und Fruchtfolge im Weizenbau. Landw. Z. Nord-Rheinprovinz Nr. 43.

BONIFAS, V., 1952: Détermination de l'association synergique binaire d'antibiotes et de sulfamides. Experientia 8, 234—235.

Boone, D. M., D. M. Kline, and G. W. Keitt, 1957: *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. XIII. Pathogenicity of induced biochemical mutants. Amer. J. Bot. **44**, 791—796.

Broadfoot, W. C., 1933 a: Studies on foot and root rot of wheat. I. Effect of age of the wheat plant upon the development of foot and root rot. Canad. J. Res. **8**, 483—491.

— —, 1933 b: Studies on foot and root rot of wheat. II. Cultural relationships on solid media of certain micro-organisms in association with *Ophiobolus graminis* Sacc. Canad. J. Res. **8**, 545—552.

Buxton, E. W., 1960: Effects of pea root exudate on the antagonism of some rhizosphere micro-organisms towards *Fusarium oxysporum* f. *pisi*. J. gen. Microbiol. **22**, 678—689.

— —, and D. A. Perry, 1959: Pathogenic interactions between *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* on peas. Trans. brit. mycol. Soc. **42**, 378—387.

Cholodny, N., 1930: Über eine neue Methode zur Untersuchung der Bodenmikroflora. Arch. Mikrobiol. **1**, 620—652.

Close, R., 1960: Free amino-acids of some fungi. Nature **185**, 609—610.

Cochrane, V. W., 1958: Physiology of fungi. Wiley, New York, 524 S.

Conn, H. J., 1946: Biological stains. Biol. Stain Commission, Geneva N. Y., 346 S.

Darby, R. T., and D. R. Goddard, 1950: Studies of the respiration of the mycelium of the fungus *Myrothecium verrucaria*. Amer. J. Bot. **37**, 379—387.

Davis, R. J., 1925: Studies on *Ophiobolus graminis* Sacc. and the take-all disease of wheat. J. agric. Res. **31**, 801—825.

Défago, G., 1941: Observations sur les piétins des céréales en Suisse romande. Ber. schweiz. bot. Ges. **52**, 5—46.

Dellweg, H., und K. Bernhauer, 1956: Über die mikrobiologische Bestimmung von Thiamin mit Hilfe von *Lactobacillus fermentum*. Biochem. Z. **328**, 264—266.

Difco Manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures. 1953. 9. Aufl. Difco Lab., Detroit, 350 S.

Dörfel, H., 1959: Proteine und ihre Bausteine. In Linskens, H. F., Papierchromatographie in der Botanik, S. 148—198. 2. Aufl. Springer, Berlin, 408 S.

Drèze, A., S. Moore, and E. J. Bigwood, 1954: On the desalting of solutions of amino acids by ion exchange. Analyt. chim. Acta **11**, 554—558.

Dutta, S. K., C. V. Hall, and E. G. Heyne, 1960: Pathogenicity of biochemical mutants of *Colletotrichum lagenarium*. Bot. Gaz. **121**, 166—170.

Ettlinger, L., 1946: Antibiose und antibiotische Stoffe der Pflanzen. Schweiz. Z. Pathol., Bakt. **9**, 352—378.

Fellows, H., 1928: Some chemical and morphological phenomena attending infection of the wheat plant by *Ophiobolus graminis*. J. agric. Res. **37**, 647—661.

Flück, V., 1955: Untersuchungen über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. Phytopath. Z. **23**, 177—208.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 681 S.

— —, St. Naef-Roth und G. Miescher, 1950: Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Z. **16**, 257—288.

Garrett, S. D., 1934: Factors affecting the severity of take-all. J. Agric., South Austr. **37**, 664—673, 799—805, 976—984.

— —, 1936: Soil conditions and the take-all disease of wheat. Ann. appl. Biol. **23**, 667—699.

— —, 1938 a: Soil conditions and the root-infecting fungi. Biol. Rev. **13**, 159—185.

— —, 1938 b: Soil conditions and the take-all disease of wheat. III. Decomposition of the resting mycelium of *Ophiobolus graminis* in infected wheat stubble buried in the soil. Ann. appl. Biol. **25**, 742—766.

— —, 1941: Soil conditions and the take-all disease of wheat. VII. Survival of *Ophiobolus graminis* on the roots of different grasses. Ann. appl. Biol. **28**, 325—332.

— —, 1956: Biology of root-infecting fungi. Univ. Press, Cambridge, 293 S.

Goldberg, M. W., L. H. Sternbach, S. Kaiser, S. D. Heinemann, J. Schneider, and S. H. Rubin, 1947: Antibiotin effect of some biotin-homologs. Arch. Biochem. **14**, 480—482.

Grosser, A., und W. Friedrich, 1947: Eine Testmethode zur Bestimmung von Pilzhemmstoffen. Z. Naturforsch. **2 b**, 425—427.

HÄRRI, E., 1959: Physiologische Untersuchungen über die Gattungen *Thielavia* Zopf und *Thielaviopsis* Went. Phytopath. Z. **36**, 27—66.

HAWKINS, L. A., and R. B. HARVEY, 1919: Physiological study of the parasitism of *Pythium de Baryanum* Hesse on the potato tuber. J. agric. Res. **18**, 275—297.

HAZRA, A. K., S. K. BOSE, and B. C. GUHA, 1958: A rapid method of survey of cellulolytic power of fungi. Sci. and Cult. (Calcutta) **24**, 39—40.

HENRY, A. W., 1932: Influence of soil temperature and soil sterilisation on the reaction of wheat seedlings on *Ophiobolus graminis*. Canad. J. Res. **7**, 198—203.

HILTNER, L., 1904: Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. Arb. dtsch. Landw.-Ges. **98**, 59—78.

HIRATA, K., 1955: Some observations on the relation between the penetration hypha and haustorium of the Barley Mildew (*Erysiphe graminis* DC.) and the host cell. Ann. phytopath. Soc., Japan **19**, 104—108.

HRUSHOVETZ, S. B., 1954: The effect of infection by *Helminthosporium sativum* on the amino acid content of wheat roots. Canad. J. Bot. **32**, 571—575.

— —, 1957: Effect of amino acids on the virulence of *Helminthosporium sativum* to wheat seedlings. Phytopathology **47**, 261—264.

JOHNSON, L. F., 1952: Control of root rot of corn under greenhouse conditions by microorganisms antagonistic to *Pythium arrhenomanes*. Phytopathology **42**, 468.

JUILLARD, M., 1957: Über die Cobalamine einer Mutante von *Bacillus megaterium* De Bary. Zbl. Bakt. Abt. II, **110**, 701—727.

KALYANASUNDARAM, R., 1958: Production of fusaric acid by *Fusarium lycopersici* Sacc. in the rhizosphere of tomato plants. Phytopath. Z. **32**, 25—34.

KATZNELSON, H., J. W. ROUATT, and T. M. B. PAYNE, 1955: The liberation of amino acids and reducing compounds by plant roots. Plant and Soil, The Hague, **7**, 35—48.

KLINE, D. M., D. M. BOONE, and G. W. KEITT, 1957: *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. XIV. Nutritional control of pathogenicity of certain induced biochemical mutants. Amer. J. Bot. **44**, 797—803.

KOBEL, F., 1952: Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. Phytopath. Z. **18**, 157—195.

LEACH, J. G., 1923: The parasitism of *Colletotrichum lindemuthianum*. Minn. agr. Exp. Stat. Bull. **14**, 1—41.

LILLY, V. G., and L. H. LEONIAN, 1944: The anti-biotin effect of desthiobiotin. Science **99**, 205—206.

LINGAPPA, J., and J. L. LOCKWOOD, 1961: A chitin-medium for isolation, growth and maintenance of actinomycetes. Nature **189**, 158—159.

LOCHHEAD, A. G., M. J. TIMONIN, and P. M. WEST, 1940: The microflora of the rhizosphere in relation to resistance of plants to soil-borne pathogens. Sci. Agric. **20**, 414—418.

LUDBROOK, W. V., 1942: Root amputation experiments with wheat and dry conditions, in relation to attack by *Ophiobolus graminis* Sacc. J. Counc. sci., ind. Res. **15**, 129—134.

MCANELLY ,C. W., 1959: Free amino acids in the cultural media and cells of *Fusarium solani* f. *phaseoli*. Phytopathology **49**, 734—737.

MCCLENDON, J. H., and G. F. SOMERS, 1960: The enzymic maceration of plant tissues: observations using a new method of measurement. Amer. J. Bot. **47**, 1—7.

MOFFAT, E. D., and R. J. LYTLE, 1959: Polychromatic technique for the identification of amino acids on paper chromatograms. Analyt. Chem. **31**, 926—928.

MORTON, A. G., 1951: Formation of extra-cellular nitrogen compounds by fungi. Nature **168**, 333.

— —, and D. BROADBENT, 1955: The formation of extra-cellular nitrogen compounds by fungi. J. gen. Microbiol. **12**, 248—258.

MÜCKE, D., 1957: Einführung in mikrobiologische Bestimmungsverfahren. 2. Aufl. Thieme, Leipzig, 190 S.

MÜLLER, E., 1952: Pilzliche Erreger der Getreideblattdürre. Phytopath. Z. **19**, 403—416.

MURRAY, H. C., and F. P. ZSCHEILE, 1956: Studies on the amino acid composition and nutrient requirements of the wheat bunt fungus. Phytopathology **46**, 363—366.

Oort, A. J. P., 1936: The eyespot disease of cereals, caused by *Cercosporella herpotrichoides* Fron. T. Plantenziekten **42**, 179—234.

Paddock, W. C., 1953: Histological study of suscept-pathogen relationships between *Helminthosporium victoriae* M. and M. and seedling oat leaves. Mem. Cornell Univ. agr. Exp. Sta. **315**, 1—63.

Paech, K., und M. V. Tracey, 1955: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Bd. 2, Springer, Berlin, 626 S.

Perry, D. A., 1959: Studies on the mechanism underlying the reduction of pea wilt by *Fusarium solani* f. *pisi*. Trans. brit. mycol. Soc. **42**, 388—396.

Pilgrim, F. J., A. E. Axelrod, T. Winnick, and K. Hofmann, 1945: The microbiological activity of an oxygen analog of biotin. Science **102**, 35—36.

Potter, V. R., and C. Elvehjem, 1936: A modified method for the study of tissue oxidations. J. biol. Chem. **114**, 495.

Purdy, L. H., 1958: Some factors affecting penetration and infection by *Sclerotinia sclerotiorum*. Phytopathology **48**, 605—609.

Rovira, A. D., 1956 a: Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. I. The nature of root exudate from oats and peas. Plant and Soil **7**, 178—194.

— —, 1956 b: Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. II. A study of the properties of root exudate and its effect on the growth of micro-organisms isolated from the rhizosphere and control soil. Plant and Soil **7**, 195—208.

— —, 1956 c: Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. III. The effect of root exudate on the numbers and activity of micro-organisms in soil. Plant and Soil **7**, 209—217.

Sandhu, R. S., 1959: Studies on the biogenesis of fusaric acid. Phytopath. Z. **37**, 33—60.

Sanford, G. B., and W. C. Broadfoot, 1931: Studies on the effects of other soil-inhabiting microorganisms on the virulence of *Ophiobolus graminis*. Sci. Agric. **11**, 512—528.

Schömmer, F., 1949: Kryptogamen-Praktikum. Franckh, Stuttgart, 492 S.

Schwartz, W., und A. Schwartz, 1960: Grundriß der allgemeinen Mikrobiologie. 1. Teil, 2. Aufl. Gruyter, Berlin, 147 S.

Shive, W., and C. G. Skinner, 1958: Metabolic antagonists. Ann. Rev. Biochem. **27**, 643—678.

Slagg, C. M., and H. Fellows, 1947: Effects of certain soil fungi and their byproducts on *Ophiobolus graminis*. J. agric. Res. **75**, 279—293.

Somogyi, J. C., 1952: Die Antianeurinfaktoren. Huber, Bern, 120 S.

— —, 1956: Metaboliten und Antimetaboliten. In Bauer, K. F., Ergebnisse der medizinischen Grundlagenforschung, S. 139—188. Bd. 1, Thieme, Stuttgart, 855 S.

Spencer, D. M., J. H. Topps, and R. L. Wain, 1957: Fungistatic properties of plant tissues. An antifungal substance from the tissues of *Vicia faba*. Nature **179**, 651—652.

Sprague, R., 1935: *Wojnowicia graminis* as a very weak, secondary parasite of winter cereal crops. Phytopathology **25**, 405—415.

— —, 1950: Diseases of cereals and grasses in North America. Ronald Press, New York, 538 S.

— —, and A. G. Johnson, 1950: *Ascochyta* leaf spots of cereals and grasses in the United States. Mycologia **42**, 523—553.

Stange, L., 1959: Kohlenhydrate. In Linskens, H. F., Papierchromatographie in der Botanik. S. 81—110. 2. Aufl. Springer, Berlin, 408 S.

Starkey, R. L., 1958: Interrelations between microorganisms and plant roots in the rhizosphere. Bact. Rev. **22**, 154—172.

Strasburger, E., 1923: Das botanische Praktikum. 7. Aufl. Fischer, Jena, 883 S.

Timonin, M. J., 1941: The interactions of higher plants and soil micro-organisms. III. Effect of by-products of plant growth on activity of fungi and actinomycetes. Soil Sci. **52**, 395—413.

Walker, G. F., 1951: Vermiculite and some related mixed-layer minerals. X-ray identification and structure of the clay minerals. Min. Soc. of Great Brit. Monograph, Chap. 7, 199—223.

Weindling, R., 1932: *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology **22**, 837—845.

West, P. M., 1939: Excretion of thiamine and biotin by the roots of higher plants. Nature **144**, 1050—1051.

White, N. H., 1941: Physiological studies of the fungus *Ophiobolus graminis* Sacc. I. Growth factor requirements. J. Counc. sci., ind. Res. **14**, 137—146.

Williams, L. E., and A. F. Schmitthenner, 1960: Effect of growing crops and crop residues on soil fungi and seedling blights. Phytopathology **50**, 22—25.

Winter, A. G., 1944: Der Einfluß partieller Sterilisation des Bodens auf die Entwicklung der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis*. Phytopath. Z. **14**, 204—302.

— —, 1947: Eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Wachstums parasitischer oder saprophytischer Pilze im natürlichen Boden. „Festschrift Appel", Biol. Zentralanst., Berlin-Dahlem.

— —, 1949 a: Untersuchungen über die Beziehungen zwischen *Ophiobolus graminis* und anderen Organismen mit Hilfe der Aufwuchsplattenmethode. Arch. Mikrobiol. **14**, 240—270.

— —, 1949 b: Rhizosphäre und Krankheitsresistenz. Z. Pfl.krankh. **56**, 93—95.

— —, 1950: Weitere Beobachtungen über das Zusammenleben von *Ophiobolus graminis* und anderen Bodenmikroben mit Hilfe der Aufwuchsplatten. Arch. Mikrobiol. **14**, 588—593.

— —, 1952: Untersuchungen über die Förderung der Jugendentwicklung der Hauptgetreidearten durch bodenbewohnende Pilze. Phytopath. Z. **18**, 221—230.

— —, und R. v. Rümker, 1949: Die Bedeutung der Mikroflora der wurzelnahen Zone für die Resistenz von Wurzeln gegen Pilzkrankheiten. Naturwissenschaften **36**, 30—31.

— —, und — —, 1950: Die Mikroflora der Rhizosphäre als resistenzbestimmender Faktor. Arch. Mikrobiol. **15**, 72—84.

Woolley, D. W., 1952: A study of antimetabolites. Wiley, New York, 269 S.

— —, and A. G. C. White, 1943: Selective reversible inhibition of microbial growth with pyrithiamine. J. exp. Med. **78**, 489—497.

Young, P. A., 1926: Facultative parasitism and host ranges of fungi. Amer. J. Bot. **13**, 502—520.

Zogg, H., 1950: Über Mischinfektionen bei Fußkrankheiten des Getreides. Schweiz. Z. Pathol., Bakt. **13**, 574—579.

— —, 1951: Studien über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. Phytopath. Z. **18**, 1—54.

— —, 1957: Über die Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum pflanzlicher Parasiten. II. Vitamine B_1 und Biotin; *Calonectria graminicola*. Phytopath. Z. **29**, 65—71.

Zwillenberg, H. H. L., 1959: *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. auf Mais und verschiedenen anderen Pflanzen. Phytopath. Z. **34**, 417—425.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Mykologie, Berlin-Dahlem

Fusarium redolens Wr., seine phytopathologische Bedeutung und eine an *Dianthus*-Arten gefäßparasitäre Form (*F. redolens* Wr. f. *dianthi* Gerlach)

Von

W. Gerlach und H. Pag

Mit 7 Abbildungen

Die phytopathologische Bedeutung von *F. redolens*

Fusarium redolens Wr. (9, 30, 31, 32), ein von *F. oxysporum* Schl. mormorphologisch eindeutig verschiedenes *Fusarium* der Sektion *Elegans* (9, 10), ist in Gebieten mit gemäßigtem Klima nicht selten. Es gehört dort offenbar zu den im Boden am häufigsten vorkommenden Fusarien und ist an vielen Pflanzenarten der verschiedensten Familien festgestellt worden (4, 7, 9, 11, 12, 18, 24, 32), und zwar meistens im Zusammenhang mit Wurzel-, Rhizom-, Knollen-, Zwiebel- oder Stengelgrundfäulen, Sämlingsumfall sowie Welke- und Absterbeerscheinungen. In der Literatur gibt es zwar einige Hinweise darauf, daß *F. redolens* als Erreger solcher Krankheitserscheinungen in Frage kommen könnte, aber nur in wenigen Fällen ist dieses *Fusarium* als Fäuleerreger oder Gefäßparasit durch Infektionsversuche und Reisolierungen sicher nachgewiesen worden. So liegen für den Phytopathologen interessante Angaben über das Auftreten dieses Pilzes vor für:

Agaricus — in Großbritannien wiederholt im Substrat von Champignonkulturen mit „damping-off" festgestellt (33); Infektionsversuche fehlen;

Asparagus — in Kanada (12) und Deutschland (9) von Faulstellen an unterirdischen Teilen vorzeitig vergilbender Spargelpflanzen wiederholt isoliert; in Kanada als Erreger einer Wurzelfäule des Spargels („seedling blight") nachgewiesen; nur auf das Rindengewebe beschränkt, nicht gefäßparasitär; rief in Infektionsversuchen an Sämlingen von *Asparagus plumosus* und *Gladiolus* hybr. (Sorte „Picardy") ebenfalls Wurzelläsionen hervor, nicht aber an *Allium cepa, Asparagus sprengeri, Avena sativa, Hordeum vulgare, Medicago sativa, Secale cereale, Spinacia oleracea, Triticum aestivum* und *Zea mays* (13);

Beta — in Deutschland (32) von faulenden Rüben isoliert; Pathogenität nicht geprüft;

Coniferae — in Kanada (12, 22, 38) und Finnland (18) auf faulenden Sämlingen verschiedener Koniferenarten festgestellt; in Infektionsversuchen als verhältnismäßig schwach pathogen erwiesen (29);

Dianthus — in Deutschland (9, 32) und Kanada (12) von der Basis und aus höheren Stengelpartien (9) welkender Edelnelken isoliert;

Gramineae — in Kanada auf Körnern verschiedener Getreidearten nur ganz vereinzelt (10), auf faulenden Wurzeln dagegen sehr häufig beobachtet (11); Infektionsversuche an Sämlingen von Weizen (13, 19) sowie von Gerste, Hafer, Roggen und Mais verliefen negativ (13);

Lilium — in der Sowjetunion (Ukraine) für den Erreger einer Zwiebelfäule gehalten; *Lilium candidum* soll besonders anfällig sein; soweit aus Referat zu erkennen, nur Beobachtungen; Nachweis der Pathogenität dürfte noch ausstehen (34);

Linum — in Deutschland (23) und Kanada (12) von faulenden Wurzeln einiger Leinpflanzen isoliert; bei Aussaat in verseuchte Erde bis zu 75 % der Samen nicht aufgelaufen oder Sämlinge nachträglich abgestorben (23);

Lycopersicon — in Südafrika auf Tomatensamen festgestellt (7);

Medicago — in Deutschland (32) und Kanada (12) an der Basis faulender Luzernepflanzen nachgewiesen; Infektionsversuch an Sämlingen war erfolglos (13);

Pisum — in USA (15, 20, 21), Kanada (12), Deutschland (9, 25), Tschechoslowakei (3) und Großbritannien (5, 6, 16) von welkenden und absterbenden Erbsen isoliert; bereits 1913 von WOLLENWEBER (30) als Erreger einer Tracheomykose und Fußkrankheit angesehen, später auch von anderen Autoren für Krankheitserreger an Erbse gehalten (15, 20, 25), obwohl Pathogenität nicht nachgewiesen war; der einzige sichere Nachweis erst 1955 von BUXTON (5) erbracht; demzufolge verursacht *F. redolens* eine Welkekrankheit, die von der durch *F. oxysporum* Schl. f. *pisi* (Linf.) Snyd. et Hans. Rasse 1 (= *F. orthoceras* App. et Wr. var. *pisi* Linford) (27) hervorgerufenen nicht zu unterscheiden ist (5);

Solanum — in USA (24), Deutschland (32) und Kanada (12) auf faulenden Kartoffelknollen festgestellt;

Spinacia — in USA *F. spinaciae*, das morphologisch zu *F. redolens* gehört (9, 32), als Erreger einer Tracheomykose sowie Wurzel- und Wurzelhalsfäule des Spinats nachgewiesen (17);

Trifolium — in Dänemark (14) und Deutschland (32) aus dem Innern von Wurzeln kranker Rotkleepflanzen isoliert; Pathogenität noch nicht geprüft;

Vicia — auf Cypern im Zusammenhang mit einer Wurzelfäule der Pferdebohne festgestellt, die primär durch eine Rasse von *F. oxysporum* f. *pisi* verursacht werden soll; jedoch nur als sekundär angesehen (1).

Weitere Pflanzenarten, an denen *F. redolens* angetroffen wurde, sind bei Bilai (4), Gerlach (9), Gordon (12) sowie bei Wollenweber und Reinking (32) aufgeführt. Sie sollen hier nicht einzeln genannt werden; denn Hinweise darauf, daß an ihnen *F. redolens* als Krankheitserreger eine Rolle spielen könnte, fehlen.

Unsere Kenntnisse über die phytopathologische Bedeutung von *F. redolens* sind also zur Zeit noch gering. Soweit aus der Literatur zu ersehen, ist diese *Fusarium*-Art bisher als Gefäßparasit lediglich an Erbse und Spinat und als Fäuleerreger nur an Spargel, Koniferen- und Leinsämlingen sicher nachgewiesen worden.

F. redolens Wr. f. *dianthi* Gerlach, ein bisher unbekannter Erreger einer Welkekrankheit der Nelken

In einer kürzlich erschienenen Arbeit (Gerlach [9]) wurde erwähnt, daß sich einige Stämme von *F. redolens* an *Dianthus* spp. als pathogen erwiesen hätten. Über die Versuche, die zu diesem Befund führten, soll nun berichtet werden.

In den Jahren 1954 bis 1956 waren im Rahmen von Untersuchungen über Morphologie und Biologie von *Elegans*-Fusarien[1]) insgesamt 18 *Fusarium*-Stämme von kranken Edelnelken aus deutschen Gärtnereien isoliert, auf die im hiesigen Institut bewährte Weise (vgl. Gerlach [8, 9]) in Reinkultur genommen, eingehend studiert und bestimmt worden. Zwölf dieser Stämme, nämlich 7736 bis 7744, 7910, 8013 und 8087, gehören zu *F. redolens* (vgl. Tab. 1 bei Gerlach [9]), die sechs restlichen, nämlich 7487, 7599, 7703, 7735, 7784 und 8144, zu *F. oxysporum*. Die meisten der Nelken, von denen diese 18 Isolate stammen, zeigten Symptome einer Stengelgrundfäule. An einigen waren jedoch verbräunte Gefäßpartien bis hoch in den Stengel hinauf festzustellen, so daß der Verdacht entstand, diese Pflanzen könnten von einem gefäßparasitären Welkeerreger befallen sein. Da das Vorkommen von *F. oxysporum* Schl. f. *dianthi* (Prill. et Delacr.) Snyd. et Hans. (= *F. dianthi* Prill. et Delacr.) (27), dem seit über 60 Jahren bekannten Erreger der *Fusarium*-Welkekrankheit der Edelnelke, in Deutschland zwar allgemein angenommen, jedoch bisher noch nicht eindeutig nachgewiesen worden war, wurde die Pathogenität der 18 Isolate aus der *Fusarium*-Sektion *Elegans* an *Dianthus*-Arten geprüft.

Infektionsversuche

In der Zeit von August 1957 bis September 1959 wurden insgesamt sieben Infektionsversuche durchgeführt. Als Versuchspflanzen dienten etwa vier bis sechs Wochen alte Edelnelken verschiedener „Sim"-Sorten, sowie etwa gleich alte Sämlinge von Chabaud-, Land-, Bart- und Federnelken. Die Pflanzen wurden in gedämpfter Erde angezogen und bei Ansatz eines Versuches in ein Substrat verpflanzt, dem ein von dem jeweils zu prüfenden *Fusarium*-Stamm

[1]) Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die für diese Untersuchungen Mittel zur Verfügung gestellt hat, sei auch an dieser Stelle dafür gedankt.

bewachsenes Torf-Häcksel-Sand-Gemisch (vgl. GERLACH [8]) untergemischt worden war, und zwar ein 500-cm³-Kolben auf je fünf 10-cm-Töpfe (für die Edelnelken), auf zehn 7-cm-Töpfe oder auf zwei 25 × 25 × 7 cm große Tonschalen (für die anderen Nelken). Für die Kontrollen wurde nicht beimpftes Substrat verwendet. Jedes Glied eines Versuches (*Fusarium*-Stamm bzw. Kontrolle) umfaßte in der Regel 20 Pflanzen jeder der genannten Nelkenarten, bei Edelnelken manchmal auch nur zehn. Die Versuche standen im Gewächshaus je nach Jahreszeit unter unterschiedlichen Bedingungen. Die Temperatur schwankte meistens zwischen 15 und 30 °C, die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 40 und 90 %.

In den einzelnen Versuchen war zwar die Anzahl erkrankter Pflanzen nicht immer gleich, und der Krankheitsablauf war unterschiedlich schnell, doch brachten alle Versuche gleichsinnige Ergebnisse. Auf die Wiedergabe der Versuche im einzelnen soll daher verzichtet werden; ihre Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengestellt und werden durch die Abbildungen 1, 2, 4, 5 und 6 belegt.

Pathogenität von 18 *Fusarium*-Stämmen an Nelken
(Zusammenfassung von sieben Infektionsversuchen)

Stamm	Nelken-Art				
	Edelnelke *D. caryophyll.*	Landnelke *D. caryophyll.*	Chabaudnelke *D. caryophyll.*	Federnelke *D. plumarius*	Bartnelke *D. barbatus*
F. oxysporum					
7487	+	+	+	+	+
7599	—	—	—	—	—
7703	—	—	—	—	—
7735	—	—	—	—	—
7784	—	—	—	—	—
8144	—	—	—	—	—
F. redolens					
7736	—	—	—	—	—
7737	—	—	—	—	—
7738	—	—	—	—	—
7739	—	—	—	—	—
7740	—	—	—	—	—
7741	—	—	—	—	—
7742	—	—	—	—	—
7743	—	—	—	—	—
7744	—	—	—	—	—
7910	+	+	+	+	+
8013	—	+	+	+	+
8087	—	+	+	+	+

+ = Infektionsversuche positiv.
— = Infektionsversuche negativ.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, erwiesen sich von den 18 geprüften Isolaten nur vier an Nelken als pathogen, nämlich 7487 (*F. oxysporum*), 7910, 8013 und 8087 (*F. redolens*). (Alle vier Isolate stammen aus einer Berliner Gärtnerei!) Während aber die Stämme 7487 und 7910 an allen hier verwendeten *Dianthus* spp. — auch an Edelnelke — eine Welkekrankheit hervorriefen

Abb. 1. Infektionsversuch an Edelnelke nach sechs Wochen; links: Kontrolle, Mitte: mit *F. oxysporum* f. *dianthi* (Stamm 7487), rechts: mit *F. redolens* f. *dianthi* (Stamm 7910) infizierte Pflanze

Abb. 2. Infektionsversuch mit *F. redolens* f. *dianthi* (Stamm 7910) an Chabaud-, Feder-, Bart- und Landnelke (von links nach rechts) nach vier Wochen; hintere Reihe: Kontrollpflanzen

(Abb. 1 und 2), verursachten die Isolate 8013 und 8087 nur an Land-, Chabaud-, Feder- und Bartnelke, nicht aber an Edelnelke eine Welke. Diese beiden, in den Konidienmerkmalen von Stamm 7910 und anderen Stämmen von *F. redolens* etwas abweichenden Isolate (Abb. 3) (vgl. GERLACH [9]) waren jedoch auch an diesen Nelkenarten in allen Versuchen schwächer pathogen als die Stämme 7487 und 7910: Es dauerte in der Regel länger, bis die ersten Pflanzen erkrankten, und die Zahl der überlebenden Nelken war größer.

Die Krankheitsbilder, die von den Stämmen 7487 und 7910 an Edelnelken verursacht wurden, stimmen mit den für die *Fusarium*-Welkekrankheit in der Literatur beschriebenen weitgehend überein[1]): Von unten nach oben fortschreitende, anfangs oft einseitige Welke des Sprosses (Abb. 1) sowie Verbräunung der Gefäßpartien und der angrenzenden Gewebe im Stengel (Abb. 4). Am Grunde abgestorbener Stengel traten gelegentlich Sporodochien der Welkeerreger auf (Abb. 5). Unterschiede in den Symptomen und im Verlauf der durch die beiden morphologisch eindeutig verschiedenen *Fusarium*-Stämme 7487 und 7910 verursachten Welkekrankheiten konnten nicht festgestellt werden. Die an den anderen Nelkenarten entstandenen Krankheitsbilder entsprachen ebenfalls denen einer Tracheomykose. Am schnellsten — in der Regel schon nach acht bis zehn Tagen — zeigten sie sich an der Bartnelke (Abb. 6). Nach spätestens vier Wochen waren bei den Stämmen 7487 und 7910 alle, bei den Stämmen 8013 und 8087 die meisten Pflanzen dieser Nelkenart verwelkt und abgestorben.

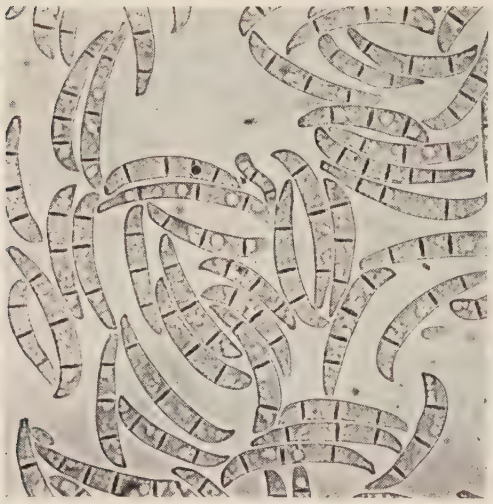


Abb. 3. *F. redolens* f. *dianthi* (Stamm 8013); für diesen und Stamm 8087 typische Makrokonidien aus Sporodochien einer zehn Wochen alten Kultur auf Hafermehlagar (500 : 1)

Aus verbräunten Gefäßpartien der in den Versuchen sichtbar erkrankten Nelken konnten die vier pathogenen *Fusarium*-Stämme regelmäßig reisoliert werden, oft auch aus solchen Pflanzen, die äußerlich noch keine Symptome erkennen ließen.

Die Ergebnisse dieser Infektionsversuche beweisen,

daß es sich bei Stamm 7487 um *F. oxysporum* Schl. f. *dianthi* (Prill. et Delacr.) Snyd. et Hans. handelt,

[1]) Auf die Symptome soll hier nicht näher eingegangen werden, da diese in einer demnächst in dieser Zeitschrift erscheinenden Arbeit von D. HANTSCHKE ausführlich beschrieben werden.

daß es auch von *F. redolens* Stämme gibt (7910, 8013, 8087), die an *Dianthus* spp. eine Tracheomykose verursachen,

daß sich diese drei an Nelken pathogenen *Redolens*-Stämme hinsichtlich ihres Wirtsspektrums und ihrer Pathogenität nicht einheitlich verhalten.

Abb. 4 (links). Einseitige Verbräunung im Stengel einer mit *F. redolens* f. *dianthi* (Stamm 7910) infizierten, welkekranken Edelnelke

Abb. 5 (rechts). *F. redolens* f. *dianthi* (Stamm 7910); Sporodochien auf dem Stengel einer welkekranken Edelnelke (vergrößert)

Da das unterschiedliche Verhalten der in diesen Versuchen geprüften zwölf *Redolens*-Stämme (Tab. 1) auf eine ähnliche biologische Differenzierung bei dieser *Fusarium*-Art hindeutete, wie sie für den Formenkreis von *F. oxysporum* seit langem bekannt ist, und daher die Vermutung nahe lag, die Stämme 7910, 8013 und 8087 könnten auf *Dianthus*-Arten spezialisiert sein, wurde diesen Fragen weiter nachgegangen.

Ein am 8. April 1960 angesetzter Versuch sollte Aufschluß darüber geben, ob unter den im hiesigen Institut von anderen Pflanzenarten isolierten Stämmen von *F. redolens* ebenfalls an Nelken pathogene sind. Es wurden 19 Isolate von Erbse, Gurke, Liguster, Lupine, Schwertlilie, Spargel und Tulpe geprüft, außerdem zum Vergleich noch einmal 11 der 12 obengenannten *Redolens*-Isolate

von Edelnelken. Mit jedem dieser — bei GERLACH (9) in Tabelle 1 unter den Nummern 7535 bis 8467 aufgeführten (7542, 7557 und 7744 wurden nicht geprüft) — 30 Stämme wurde die gedämpfte Erde von je zwei Tonschalen verseucht (s. o.). Als Testpflanze diente die Bartnelke, die sich dafür ja als besonders gut geeignet erwiesen hatte. In jede Schale wurden 20 Sämlinge der Sorte „Scharlachkönigin" gepflanzt, die Zahl der Pflanzen betrug also je Versuchsglied 40. Der Versuch stand im Gewächshaus, die Temperatur lag meist zwischen 20 und 30 °C, die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 50 und 80 %.

Abb. 6. Infektionsversuch an Bartnelke nach zwei Wochen; von links nach rechts: Kontrolle, *F. redolens* (Stamm 7736), *F. oxysporum* f. *dianthi* (Stamm 7487), *F. redolens* f. *dianthi* (Stämme 7910, 8013 und 8087)

Nach neun Tagen zeigten sich an einigen der mit den Stämmen 7910, 8013 bzw. 8087 infizierten Pflanzen die ersten Symptome. Nach vier Wochen waren bei 7910 bereits alle, bei 8013 20 und bei 8087 17 Pflanzen abgestorben und am 3. Juni 1960, also nach acht Wochen, auch bei diesen Stämmen alle 40 Bartnelken verwelkt oder sichtbar erkrankt. Bei allen anderen *Redolens*-Stämmen hatten sich die Bartnelken gut weiterentwickelt, waren gesund und von den Pflanzen der Kontrolle nicht zu unterscheiden.

Von den geprüften 30 Isolaten von *F. redolens* waren also außer den bereits als Gefäßparasiten an Nelken nachgewiesenen 7910, 8013 und 8087 keine weiteren Stämme an der Bartnelke pathogen.

Um die Frage zu klären, ob diese drei Stämme tatsächlich auf *Dianthus* spp. spezialisiert sind und ob eventuell einer der an Nelken nicht pathogenen *Redolens*-Stämme andere Pflanzen befällt, wurden zwei weitere Infektionsversuche im Gewächshaus durchgeführt, und zwar an Pflanzenarten, die in der

Literatur als mögliche oder nachgewiesene Wirtspflanzen für *F. redolens* genannt werden.

In einem am 26. Oktober 1959 angesetzten Versuch wurden die 30 obengenannten Isolate an Lein, Luzerne, Spinat und Weizen sowie zum Vergleich außerdem an Bartnelke geprüft. Von jeder dieser Pflanzenarten wurden je Stamm und Kontrolle 50 Samen in eine Tonschale mit verseuchtem Erdsubstrat (je Schale ein Kolben Infektionsmaterial untergemischt) ausgelegt.

Auch in diesem Versuch erwiesen sich lediglich die *Redolens*-Stämme 7910, 8013 und 8087 als pathogen, und zwar nur an Bartnelke. Spinat, Lein, Luzerne und Weizen blieben gesund.

Im letzten, am 27. April 1961 angesetzten Infektionsversuch wurden nur diese drei Stämme geprüft, diesmal jedoch an neun verschiedenen Pflanzenarten, nämlich Bartnelke, Erbse, Lein, weißer Lupine, Luzerne, Rotklee, Spargel, Spinat und Tomate. Die Versuchspflanzen (30 jeder Pflanzenart je Pilz-Stamm bzw. Kontrolle) wurden in gedämpfter Erde angezogen und als drei bis fünf Wochen alte Sämlinge in verseuchtes Substrat (s. o.) gepflanzt, Erbse und Lupine gleich dahinein ausgesät, und zwar immer fünf Korn (gebeizt) in einen 14-cm-Rosentopf. Die Spargelsämlinge kamen einzeln in 9-cm-Rosentöpfe, die Sämlinge der sechs anderen Pflanzenarten in gewöhnliche 7-cm-Töpfe (Abb. 7). An Infektionsmaterial wurde ein 500-cm^3-Kolben des beimpften Torf-Häcksel-Sand-Gemisches auf jeweils zwei 14-cm- bzw. fünf 9-cm- oder zehn 7-cm-Töpfe gegeben. Der Versuch stand ebenfalls im Gewächshaus und wurde am 8. Juni — also nach sechs Wochen — abschließend bonitiert.

Das Ergebnis geht aus Abbildung 7 hervor. Trotz der sehr günstigen Infektionsbedingungen — außerordentlich starke Verseuchung der Erde, sehr junge, empfindliche Versuchspflanzen und Temperaturen zwischen 25 und 30 °C — verursachten die *Redolens*-Stämme 7910, 8013 und 8087 nur an

Abb. 7. Infektionsversuch mit *F. redolens* f. *dianthi* (Stamm 7910) nach fünf Wochen; von links nach rechts: weiße Lupine, Spargel, Erbse, Tomate, Lein, Rotklee, Bartnelke, Luzerne, Spinat (nur die Bartnelke ist abgestorben!)

Bartnelke eine Tracheomykose. Alle anderen Pflanzen ließen keinerlei Anzeichen einer Welkekrankheit erkennen[1]); die Kontrollen blieben gesund.

Diskussion

Durch die Ergebnisse der Versuche mit Stamm 7487 aus dem Formenkreis des *F. oxysporum* Schl. wurde der als *F. oxysporum* f. *dianthi* bekannte Welkeerreger der Edelnelke erstmalig für Deutschland eindeutig nachgewiesen. Daß es auch von *F. redolens* Stämme gibt (7910, 8013, 8087), die an *Dianthus*-Arten eine Tracheomykose verursachen, war bisher unbekannt. Es kommen also zwei morphologisch verschiedene *Elegans*-Fusarien als Erreger einer Welkekrankheit der Nelken vor. Die von ihnen hervorgerufenen Krankheiten lassen sich allerdings an Hand der Symptome nicht voneinander unterscheiden.

Der Befund, daß Stämme, die an der Edelnelke gefäßparasitär sind, auch die Bartnelke befallen, bestätigt die von ARMSTRONG und ARMSTRONG (2) mitgeteilten Versuchsergebnisse. Es wird daher die Meinung dieser Autoren geteilt, daß der von SNYDER (26) als *F. oxysporum* f. *barbati* bezeichnete Welkeerreger an *Dianthus barbatus* nicht als eigene „forma specialis" beibehalten werden sollte. Vorausgesetzt, daß es überhaupt ein auf Bartnelke spezialisiertes *Elegans-Fusarium* gibt — die von SNYDER mitgeteilten Befunde dürften als Beweis dafür kaum ausreichen —, muß offen bleiben, ob dieser Pilz (eventuell als Rasse) zu *F. oxysporum* f. *dianthi* oder zu *F. redolens* f. *dianthi* zu stellen ist[2]); denn SNYDER hat keinerlei Angaben über die Morphologie von „*F. oxysporum* f. *barbati*" gemacht und hält ja *F. redolens* bekanntlich für nicht verschieden von *F. oxysporum* (27).

Die negativen Ergebnisse der Infektionsversuche mit den Stämmen 7910, 8013 und 8087 an Erbse, Lein, weißer Lupine, Luzerne, Rotklee, Spargel, Spinat, Tomate und Weizen sprechen dafür, daß diese drei *Redolens*-Stämme als Gefäßparasiten auf *Dianthus*-Arten (möglicherweise auch noch andere Vertreter der Familie der *Caryophyllaceae*) beschränkt sind. Sie dürften daher eine spezialisierte Form von *F. redolens* darstellen. Es wird für sie der Name vorgeschlagen:

---

[1]) Bei Erbse und Lupine liefen die verhältnismäßig tief gelegten Samen zwar zu einem etwas geringeren Prozentsatz und etwas ungleichmäßiger auf als bei der Kontrolle: *F. redolens* hatte die ihm als Nährsubstrat zusagenden Körner besiedelt und oft die Keimblätter (besonders die fleischigen der Lupine) von außen befallen. An einigen Lupinen griff der Pilz auch auf den Vegetationspunkt über, so daß diese Pflanzen nicht durchtrieben und allmählich verfaulten (Abb. 7, links). Diese gegenüber einer Tracheomykose völlig anderen Krankheitserscheinungen brauchen aber wohl bei der Beurteilung der Spezialisierung dieser *Redolens*-Stämme als Gefäßparasiten nicht berücksichtigt zu werden; denn sie dürften unspezifisch sein und unter ähnlich günstigen Bedingungen von vielen *Fusarium*-Arten und anderen Pilzen verursacht werden können.

[2]) In den Monaten Mai/Juni 1961 wurden in einem Bestand blühfähiger Bartnelken auf dem hiesigen Versuchsfeld welkekranke Pflanzen festgestellt. Aus diesen konnte wiederholt ein *Fusarium* isoliert werden, das morphologisch mit *F. redolens* f. *dianthi* übereinstimmt.

Fusarium redolens Wr. f. *dianthi* Gerlach.

Die Tatsache, daß diese Form keine Welkekrankheit an Spinat und Erbse verursacht, den beiden einzigen Pflanzenarten, an denen bisher *F. redolens* als Gefäßparasit nachgewiesen worden ist, läßt vermuten, daß es auch auf *Spinacia* und *Pisum* spezialisierte Formen von *F. redolens* gibt, die HUNGERFORD (17) bzw. BUXTON (5) vorgelegen haben. Allerdings wurde von diesen Autoren die Frage der Spezialisierung ihrer an Spinat bzw. Erbse pathogenen *Redolens*-Isolate nicht untersucht. Sollten sich diese tatsächlich als spezialisiert erweisen, so wäre es zweckmäßig, sie als *F. redolens* f. *spinaciae* bzw. *F. redolens* f. *pisi* zu bezeichnen. Die durch SNYDER und HANSEN (27) vorgenommene Umbenennung von *F. spinaciae* Sherb. in *F. oxysporum* Schl. f. *spinaciae* (Sherb.) Snyd. et Hans. — unter diesem Namen wird heute in den USA der Erreger der *Fusarium*-Welkekrankheit des Spinats allgemein geführt — erscheint nicht gerechtfertig; denn der von SHERBAKOFF (bei HUNGERFORD [17]) 1923 ausführlich beschriebene Pilz entspricht morphologisch *F. redolens* und nicht *F. oxysporum* (9, 32).

Zusammenfassung

Es wird ein Überblick über die phytopathologische Bedeutung von *F. redolens* Wr. gegeben. Bisher ist diese *Fusarium*-Art als Gefäßparasit nur an Spinat und Erbse und als Fäuleerreger lediglich an Spargel sowie Lein- und Koniferensämlingen sicher nachgewiesen worden.

Durch Infektions- und Reisolierungsversuche mit 30 Stämmen von *F. redolens* wird nachgewiesen, daß es Stämme gibt, die an *Dianthus*-Arten eine Welkekrankheit hervorrufen. Diese Tracheomykose ist an Hand der Symptome nicht von der durch *F. oxysporum* f. *dianthi* verursachten Welkekrankheit der Nelken zu unterscheiden. Als anfällig haben sich erwiesen: Edel-, Chabaud- und Landnelke (*Dianthus caryophyllus*) sowie Bart- (*D. barbatus*) und Federnelke (*D. plumarius*).

Die an *Dianthus* spp. gefäßparasitären Stämme von *F. redolens* haben an Erbse (*Pisum sativum*), Lein (*Linum usitatissimum*), weißer Lupine (*Lupinus albus*), Luzerne (*Medicago sativa*), Rotklee (*Trifolium pratense*), Spargel (*Asparagus officinalis*), Spinat (*Spinacia oleracea*), Tomate (*Lycopersicon esculentum*) und Weizen (*Triticum aestivum*) keine Welkekrankheit verursacht. Sie werden daher als eine spezialisierte Form von *F. redolens* aufgefaßt, für die der Name *F. redolens* Wr. f. *dianthi* Gerlach vorgeschlagen wird.

Das Vorkommen von *F. oxysporum* f. *dianthi*, das bisher allein als der Erreger der *Fusarium*-Welkekrankheit der Nelken galt, wird für Deutschland zum ersten Male sicher nachgewiesen.

Summary

A survey of the phytopathological importance of *F. redolens* Wr. is presented. Up to now this *Fusarium* species has been demonstrated with

certainty as a tracheid parasite only on spinach and peas and as a rot pathogen only on asparagus and on seedlings of flax and conifers.

By infection and reisolation experiments with 30 strains of *F. redolens* it was shown that strains capable of causing a wilt disease of *Dianthus* species occur. This tracheomycosis is not distinguishable by its symptoms from the wilt disease of carnations caused by *F. oxysporum* f. *dianthi*. Garden, Chabaud and land pinks (*Dianthus caryophyllus*) as well as *D. barbatus* and *D. plumarius* have all proved susceptible.

The tracheid parasitic strains of *F. redolens* have caused no wilt disease on peas (*Pisum sativum*), flax (*Linum usitatissimum*) white lupin (Lupinus *albus*), alfalfa (*Medicago sativa*), red clover (*Trifolium pratense*), asparagus (*Asparagus officinalis*), spinach (*Spinacia oleracea*), tomato (*Lycopersicon esculentum*) and wheat (*Triticum aestivum*). They are consequently designated as a specialized form of *F. redolens*, for which the name *F. redolens* Wr. f. *dianthi* Gerlach is proposed.

The occurrence of *F. oxysporum* f. *dianthi,* which was hitherto considered the only causal organism of *Fusarium* wilt disease of carnations, is demonstrated for the first time for Germany with certainty.

Für die Anfertigung der Abbildungen sind wir Herrn E. Schälow, Biologische Bundesanstalt, Berlin-Dahlem, zu Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis

1.* Anonym, 1955: Investigations by the Colonial Pool of Plant Pathologists. Commonw. phytopath. News **1** (4), 54—56 (Ref.: Rev. appl. Mycol. **35**, 1956, 340).

2. Armstrong, J. K., and G. M. Armstrong, 1954: *Caryophyllaceae* susceptible to the carnation wilt *Fusarium*. Phytopathology **44**, 275—276.

3.* Baudys, E., 1932: In: Report on the agencies injurious to cultivated plants in the Republic of Czecho-Slovakia in the year 1930—1931. Ochrana Rostlin **12**, 1—63 (tschechisch) (Ref.: Rev. appl. Mycol. **11**, 1932, 624).

4. Bilai, V. I., 1955: Fusarien. Akad. Ukrain. SSR, Kiew, 288 (russ.).

5. Buxton, E. W., 1955: *Fusarium* diseases of peas. Trans. brit. mycol. Soc. **38**, 309—316.

6. — —, and I. F. Storey, 1954: The occurrence of pea wilt in Britain. Plant Path. **3**, 13—16.

7. Doidge, E. M., 1938: Some South African Fusaria. Bothalia **3**, 440—442.

8. Gerlach, W., 1954: Untersuchungen über die Welkekrankheit des Alpenveilchens. Phytopath. Z. **22**, 125—178.

9. — —, 1961: *Fusarium redolens* Wr., seine Morphologie und systematische Stellung. Ein Beitrag zur Kenntnis der *Elegans*-Fusarien. Phytopath. Z. **42**, 150—160.

10. Gordon, W. L., 1952: The occurrence of *Fusarium* species in Canada. II. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seed. Canad. J. Bot. **30**, 236—238.

11. — —, 1956: The occurrence of *Fusarium* species in Canada. V. Taxonomy and geographic distribution of *Fusarium* species in soil. Canad. J. Bot. **34**, 843.

12. — —, 1959: The occurrence of *Fusarium* species in Canada. VI. Taxonomy and geographic distribution of *Fusarium* species on plants, insects, and fungi. Canad. J. Bot. **37**, 277—278.

13. Graham ,K. M., 1955: Seedling blight, a fusarial disease of *Asparagus*. Canad. J. Bot. **33**, 374—400.

14.* Gram, E., and M. Thomsen, 1927: Survey of the diseases of agricultural and horticultural cultivated plants in 1925. T. Planteavl **33**, 84—148 (dänisch) (Ref.: Rev. appl. Mycol. **6**, 1927, 336).

15. Harter, L. L., 1934: A new wilt of peas. Phytopathology **24**, 950—951.

16. Hepple, S., 1960: Infection of peas by wilt disease fungi. Nature, London, **185**, No. 4709, 333—334.

17. Hungerford, C. W., 1923: A *Fusarium* wilt of spinach. Phytopathology **13**, 205—209.

18. Jamalainen, E. A., 1944: Über die Fusarien Finnlands. III. Valt. Maatalousk. Julk., Helsinki, **124**, 16—18.

19. Johnston, C. L., and F. J. Greaney, 1942: Studies on the pathogenicity of *Fusarium* species associated with root rot of wheat. Phytopathology **32**, 670—684.

20. Jones, F. R., 1923: Stem and rootrot of peas in the United States caused by species of *Fusarium*. J. agric. Res. **26**, 459—476.

21. Linford, M. B., 1928: A *Fusarium* wilt of peas in Wisconsin. Wisconsin agric. Exp. Stat. Res. Bull. **85**, 44 S.

22.* Pomerleau, R., 1934: The fungi responsible for seedling blight of conifers at the Berthierville forest nursery. Quebec Soc. Prot. Plantes Ann. Rept. 1932—1934, 58—61 (Ref.: Rev. appl. Mycol. **14**, 1935, 409).

23. Rost, H., 1938: Untersuchungen über einige Krankheiten des Leins in Deutschland. Angew. Bot. **20**, 412—430.

24. Sherbakoff, C. D., 1915: Fusaria of potatoes. N. Y. Cornell agric. Exp. Stat. Mem. **6**, 205—209.

25. Snyder, W. C., 1935: St. John's disease of pea in Europe. Zbl. Bakt., II. Abt., **91**, 449—459.

26. — —, 1941: A *Fusarium* wilt of Sweet William (*Dianthus barbatus*). Phytopathology **31**, 1054—1056.

27. — —, and H. N. Hansen, 1940: The species concept in *Fusarium*. Amer. J. Bot. **27**, 64—67.

28.* Vaartaja, O., 1953: Seedling diseases of conifers in Saskatchewan. Bi-mon. Progr. Rept. Div. For. Biol. Dept. Agric. Canada **9**, 2 (Ref.: Rev. appl. Mycol. **34**, 1955, 688—689).

29. — —, and W. H. Cram, 1956: Damping-off pathogens of conifers and of *Caragana* in Saskatchewan. Phytopathology **46**, 391—397.

30. Wollenweber, H. W., 1913: Studies on the *Fusarium* problem. Phytopathology **3**, 29—30.

31. — —, 1931: *Fusarium*-Monographie. Fungi parasitici et saprophytici. Z. Parasitenkde. **3**, 425—426.

32. — —, und O. A. Reinking, 1935: Die Fusarien. Paul Parey, Berlin.

33. Wood, F. C., 1937: Studies on "damping off" of cultivated mushrooms and its association with *Fusarium* species. Phytopathology **27**, 85—94.

34.* Zerova, M. Y., 1940: Diseases of lilies in Kieff nurseries. J. Bot. Acad. Sci. Ukr. **1**, 143—147 (russ.) (Ref.: Rev. appl. Mycol. **20**, 1941, 364).

Die mit * gekennzeichneten Arbeiten lagen nur als Referate vor.

Aus dem College of Agriculture and Research Institute, Potchefstroom, Union of South Africa

Das Schicksal von Antibiotika in Tomatenpflanzen

II. Aufnahme, Transport und Stabilität von Antibiotika in Pflanzen

Von

W. Krüger[1])

EINLEITUNG

Die Aufnahme von Antibiotika durch die Blätter hat wenig Aussichten auf Erfolg zur Bekämpfung von Wurzel- und Stammkrankheiten, weil ein Transport der Wirkstoffe in polare Richtung nur vereinzelt beobachtet worden ist (Dunegan und Wilson 1956, Dowler und Goodman 1958, Gray 1958). Es ist somit notwendig, die Antibiotika den Pflanzen über die Wurzeln anzubieten, um Organismen dortselbst zu töten oder am Eindringen in die Pflanze zu hindern.

Die Aufnahme von Antibiotika durch Tomaten wurde schon verschiedentlich bestimmt (Pramer 1953, 1954, Granits und Janke 1954, Klemmer, Riker und Allen 1955, Crowdy, Grove, Henning und Robinson 1956, Crowdy 1957, Mehta, Gottlieb und Powell 1959), aber die Geschwindigkeit ihrer Weiterleitung und ihre Stabilität wurden nur wenig bei den Untersuchungen berücksichtigt. Die vorhandenen Ergebnisse über die Aufnahme und Weiterleitung von Antibiotika durch andere Pflanzen können nicht auch für Tomaten angenommen werden, weil die Pflanzen die Antibiotika zu „selektieren" scheinen. Pramer (1953) zeigte, daß Oxytetracyclin durch Gurken nicht, wohl aber durch Tomaten (Pramer 1954) aufgenommen wurde. Streptomycin wurde durch Tomaten absorbiert, es ließ sich aber nicht in Bohnen nachweisen (Pramer 1954, Crowdy 1957). Mehta et al. (1959) gaben Beispiele der unterschiedlichen Aufnahme von Vancomycin durch mehrere Pflanzen.

In den zu besprechenden Versuchen soll das Schicksal der Antibiotika in Tomaten verfolgt und eine Korrelation zwischen a) der *in vitro* Sensitivität von *C. michiganense* und b) der Konzentration der Antibiotika in den Pflanzen und den therapeutischen Wert des betreffenden Antibiotikums gefunden werden. Theoretischen Erwägungen zufolge sollten Antibiotika mit hoher *in vitro* Aktivität, die von den Pflanzen frei aufgenommen und in der Pflanze über

[1]) Anschrift des Verfassers: College of Agriculture, Potchefstroom, Republic of South Africa.

einen längeren Zeitraum nachgewiesen werden, *in vivo* ebenfalls am erfolgreichsten appliziert werden können.

Es ist aber beobachtet worden, daß Antibiotika mit geringer oder keiner in vitro Aktivität eine Krankheit bekämpfen (Müller, Mackay und Friend 1954, Coe 1955, Hodgson 1956, Zaumeyer und Doolittle 1956, Zaumeyer und Wester 1956, Lemin und Magee 1957, Gopalkrishnan und Jump 1952, Crosse, McWilliam, Rhodes und Dunn 1960). Diese Angaben mögen zeigen, daß eine Voraussage der Wirksamkeit von Antibiotika auf Grund von *in vitro* Resultaten nur bedingt erfolgen kann.

METHODEN

Tomatenpflanzen der Varietät „Hugo" wurden verwendet. Zur Bestimmung der Aufnahme, Weiterleitung und Stabilität der Antibiotika in den Pflanzen wurden sie nach dem Austopfen und nachdem die Wurzeln in fließendem Wasser abgespült worden waren, mit den Wurzeln in die antibiotische Lösung gestellt. Nach der Behandlung, die, sofern nicht anders angegeben, sechs Stunden dauerte, wurden die Pflanzen bis zur Analyse wieder eingetopft. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte biologisch mit der Lochmethode (Krüger 1959, 1961 c).

Bei den meisten Versuchen wurde nicht der Durchmesser der Hemmradien zur Beurteilung der Aktivität der Antibiotika in den Pflanzen gewählt, sondern in die Konzentration in E (γ)/ml Saft. Die Umrechnung der Hemmradien in E (γ)/ml wurde durch Interpolation des Durchmessers der unbekannten Hemmzone in eine Standardkurve erreicht. Diese Kurve resultierte aus Ergebnissen einer Verdünnungsreihe mit bekannten Konzentrationen des betreffenden Antibiotikums mit Saft oder Wasser als Lösungsmittel, letzteres ganz entsprechend des Vorherrschens von Adsorption oder Synergismus (Krüger 1957, 1961 a, c).

ERGEBNISSE

1. Einfluß der Expositionsdauer von Wurzeln in der Antibiotikalösung auf die Aufnahme des Antibiotikums

Für die in dieser Richtung ausgeführten Versuche seien als Beispiel nur die Resultate mit Streptomycin angeführt. Die Ergebnisse mit Oxytetracyclin, Agrimycin 100, Novobiocin und Vancomycin waren ähnlich den mit Streptomycin erhaltenen. Streptomycin wurde in Konzentrationen von 10, 50 und 200 E/ml den Pflanzen angeboten. Die Immersionszeit wurde auf 1, 3, 6 und 24 Stunden begrenzt. Drei Tage nach der Exposition wurden die Pflanzen auf Streptomycingehalt analysiert. Die verursachten Hemmradien sind in Tabelle 1 angegeben.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, war die Zunahme des Durchmessers der Hemmzonen bis zu sechs Stunden Immersion am ausgeprägtesten. Mit Ausnahme der niedrigen Konzentration von 10 E/ml war sie danach geringer. Die Konzentration von 200 E/ml erwies sich der von 50 E/ml ebenfalls überlegen.

Tabelle 1

Einfluß der Expositionsdauer von Tomatenpflanzen in Streptomycinlösung auf die Aufnahme des Antibiotikums*)

Expositionszeit in Stunden	Konzentration in E/ml	Durchmesser der Hemmradien in mm, verursacht durch den Saft von		
		Wurzeln	Stengeln	Blättern
1	10	0,0	0,0	0,0
	50	+	0,0	0/+
	200	4,3	3,4	+
3	10	0,0	0,0	0/+
	50	1,5	+	0/+
	200	7,6	7,2	0/+
6	10	0/+	0,0	+
	50	6,3	4,6	+
	200	9,7	9,4	+
24	10	4,3	+	0/+
	50	7,5	7,1	+
	200	10,2	11,1	0,6

*) Durchschnitt von sechs Pflanzen je Behandlung.

\+ Keine meßbare Hemmzone.

Infolge kühler Witterung war die Aufnahme von Wasser und in Abhängigkeit davon auch die von Streptomycin relativ gering, wie auch von PRAMER (1954) beobachtet wurde. In den meisten durchgeführten Versuchen wurde Streptomycin besser absorbiert und es konnten sogar Konzentrationen in den Blättern analysiert werden, die größer waren als die der Lösung (KRÜGER 1957).

Die Steigerung der Antibiotikaaufnahme mit der Expositionszeit der Pflanzen und der Konzentration der Lösung wurde auch für andere Antibiotika erhalten. Eine Konzentration von 200 E/ml wurde für die meisten Antibiotika gebraucht. Höhere Konzentrationen waren oft toxisch und bewirkten Welke und transparente Flecke bei den Blättern. Ausnahmen bestanden für Penicillin, das konzentrierter appliziert werden konnte. Bacitracin war aber schon bei 200 E/ml toxisch und mußte schwächer dosiert angeboten werden. Der Zustand der Pflanzen spielte ebenfalls eine Rolle. Je etiolierter die Pflanzen und je wärmer das Wetter, desto niedriger mußte die Konzentration gehalten werden. Dieses traf besonders für Oxytetracyclin und Thiolutin zu.

2. Aufnahme, Weiterleitung und Stabilität von Antibiotika in Pflanzen

Sofern die Stabilität der Antibiotika aus der Literatur nicht erfahren werden konnte, wurde in Orientierungsversuchen die Dauer ihrer Stabilität geschätzt. Auf Grund dieser Resultate wurde die Periode zwischen der Behandlung bis zu den Analysen variiert. Zur Konzentrationsbestimmung der Anti-

biotika fanden sechs bis acht Pflanzen Verwendung. Wurzeln, Stengel und Blätter wurden gesondert ausgepreßt. Von dem erhaltenen Saft wurde je 0,1 ml in zwei Löcher in den Agarplatten pipettiert. Die Ergebnisse dieser Aufnahme- und Stabilitätsteste sind in Tabelle 2 angegeben. Die Antibiotika werden ungefähr dem Grad ihrer Absorption nach aufgeführt.

Penicillin wurde von den Pflanzen gut absorbiert, und einen Tag nach der Applikation zeigte der Saft von Blättern eine Aktivität, die größer als die halbe Konzentration der dargebotenen Lösung war. Penicillin wurde sehr schnell in die Blätter weitergeleitet und nur eine ganz geringe Menge wurde 24 Stunden nach der Behandlung in den Wurzeln gefunden. Die Stengel enthielten zu diesem Zeitpunkt auch nur noch wenig Penicillin. Der Abbau des Antibiotikums in den Blättern war nicht so schnell und nach zwölf Tagen konnte dort noch eine Aktivität beobachtet werden.

Diese Ergebnisse differierten etwas von den von Granits und Janke (1954) erhaltenen. Granits und Janke fanden weniger Penicillin in den Blättern. Der Abbau war auch etwas rascher. Die Transportgeschwindigkeit war ebenfalls schnell. Diese Diskrepanzen zwischen den Resultaten müssen erwartet werden, weil die äußeren Bedingungen aus technischen Gründen nicht konstant gehalten werden können. Wie oben für Streptomycin erwähnt, waren selbst im eigenen Laboratorium, entsprechend dem Zustand der Pflanzen und den umgebenden Witterungsfaktoren, Unterschiede in der Intensität der Aufnahme und Weiterleitung zu finden.

Streptomycin wurde gut aufgenommen, aber langsam in die oberirdischen Teile transportiert, in denen es bis zum achten Tag akkumulierte, danach überwog die Dekomposition und die Aktivität nahm ab. Mit dem Steigen der Konzentration in den Blättern verringerte sie sich in den Wurzeln mehr als in den Stengeln. Die Wurzeln waren nach zwölf Tagen frei von Streptomycin. — Ein langsamer Transport von Streptomycin wurde auch von Pramer (1954) und Mirzabekyan und Menkova (1955) beobachtet. Die zuletzt genannten Autoren gaben die Translokationsgeschwindigkeit aber als etwas schneller an.

Oleandomycin wurde gut aufgenommen und schnell in die Blätter geleitet. Nach dem ersten Tage schien der Transport in die apikalen Pflanzenteile aufzuhören, denn die Konzentration von Oleandomycin in den Wurzeln nahm nur wenig ab und die in den Stengeln wenig zu. Die Oleandomycinaktivität in den Blättern blieb für zehn Tage nahezu konstant, verringerte sich dann aber schnell.

In den ersten fünf Tagen nach der Applikation war kein Konzentrationsgefälle von den Wurzeln über die Stengel zu den Blättern zu beobachten, sondern die Stengel wiesen eine bedeutend geringere Aktivität auf als die beiden anderen Pflanzenteile. Erst vom zehnten Tage ab stellte sich das Gefälle ein.

Oleandomycin kann als das stabilste Antibiotikum angesehen werden. Alle drei Pflanzenteile waren nach 29 Tagen aktiv.

Erythromycin wurde nicht so stark absorbiert wie Oleandomycin. Der Transport in die Blätter war gut. Die Aktivität dortselbst nahm schnell ab,

Tabelle 2

Aufnahme, Weiterleitung und Stabilität von Antibiotika in Tomatenpflanzen
(Durchschnitt von acht Pflanzen)

Analyse nach Tagen	Antibiotikakonzentration in E(γ)/ml in Pflanzensaft von		
	Wurzeln	Stengeln	Blättern
Penicillin G (200 E/ml; 6 hr.; *Escherichia coli)**			
1	1,0	3,5	113
6	0,0	1,0	22
12	0,0	0,0	3,6
18	0,0	0,0	0,0
Streptomycin-sulfat (200 E/ml; 6 hr.; *Escherichia coli*)			
1	106,6	36,6	0,0
3	57,6	34,0	0,0
5	9,0	19,2	2,2
8	5,3	18,6	33,4
12	0,0	3,8	20,8
19	0,0	0,7	10,3
26	0,0	0.0	3,3
Oleandomycin (200 γ/ml; 6 hr.; *Sarcina lutea*)			
1	21,5	3,8	43,4
3	12,5	5,2	43,2
5	12,2	5,5	42,8
10	6,4	7,7	44,8
19	2,5	3,7	16,6
29	1,3	2,0	3,4
Erythromycin (200 E/ml; 6 hr.; *Sarcina lutea*)			
1	12,2	2,6	26,8
3	4,1	0,6	4,2
5	1,7	0,3	1,8
8	0,8	0,2	1,4
12	0,7	0,2	1,4
19	0,3	0,0	0,8
Vancomycin-HCl (200 E/ml; 6 hr.; *Sarcina lutea*)			
1	9,5	3,4	16,3
3	4,6	2,5	14,2
5	2,2	+	15,0
8	+	+	18,8
12	0,0	+/0	13,5
19	0,0	0,0	+

Analyse nach Tagen	Antibiotikakonzentration in E(γ)/ml in Pflanzensaft von		
	Wurzeln	Stengeln	Blättern
Oxytetracyclin-HCl (200 γ/ml; 6 hr.; *Escherichia coli*)			
1	21,2	9,1	10,0
3	19,0	6,4	6,9
5	9,2	4,5	+
8	5,4	3,8	0,0
12	3,8	0,0	0,0
19	0,0	0,0	0,0
Bacitracin (25 E/ml; 6 hr.; *Sarcina lutea*)			
Sofort	0,94	0,25	1,35
1	0,04	0,04	0,57
3	0,0	0,0	0,26
5	0,0	0,0	0,16
9	0,0	0,0	0,0
Agrimycin 100 (200 γ/ml; 6 hr.; *Escherichia coli*)			
1	15,0	10,0	5,0
6	8,5	8,5	15,0
12	4,5	3,5	14,0
30	0,0	0,0	2,0
Novobiocin (200 γ/ml; 6 hr.; *Sarcina lutea*)			
1	0,76	0,34	0,51
3	0,37	0,31	0,25
5	0,31	0,25	0,0
8	0,31	0,25	0,0
12	0,26	0,0	0,0
19	0,0	0,0	0,0

\+ Keine meßbare Hemmzone.

*) Konzentration der Lösung; Expositionszeit; Testbakterium.

und nach 19 Tagen wurden nur noch Spuren von Erythromycin gefunden. Wie bei Oleandomycin, so war der Saft von Stengeln weniger aktiv als der von Wurzeln und Blättern. Dieses Charakteristikum blieb über die ganze Prüfungsperiode bestehen. Die Wurzeln enthielten das Antibiotikum noch nach 19 Tagen.

Die Aufnahme von *Vancomycin* kann als mäßig angesehen werden. Die Weiterleitung des Antibiotikums in die Blätter geschah schnell, schien aber nach dem ersten Tage aufzuhören. Die Konzentration in den Wurzeln und Stengeln verringerte sich nur wenig nach dieser Periode, auch behielten die Blätter ihre ursprüngliche Konzentration. Erst nach zwölf Tagen fand ein rascher Abbau von Vancomycin in den Blättern statt. Wie die beiden oben genannten Antibiotika, so wurde auch Vancomycin weniger in den Stengeln als in Wurzeln und Blättern gefunden.

Mehta et al. (1959) bestimmten die Aufnahme von Vancomycin in Tomaten, und ihre Ergebnisse können bestätigt werden. Transportgeschwindigkeit und Stabilität wurde von ihnen nicht in Betracht gezogen.

Die Aufnahme von *Oxytetracyclin* konnte als mäßig bezeichnet werden. Die Weiterleitung in die apikalen Teile war weniger ausgeprägt, auch fand die Dekomposition des Antibiotikums in den Blättern schnell statt. Wurzeln und Stengel waren länger aktiv.

Über eine Anreicherung von *Chlortetracyclin,* eine dem Oxytetracyclin verwandte Substanz, in den Wurzeln von *Phaseolus lunatus* wurde von Blanchard und Diller (1951) berichtet, und es wird eine Bindung dieses Antibiotikums dortselbst angenommen. Klemmer et al. (1955) kamen zu ähnlichen Resultaten wie sie hier beschrieben worden sind. Die in den Blättern bestimmten Konzentrationen waren wohl etwas höher und die Dekompositionszeit auch länger.

Bacitracin wurde nur geringfügig absorbiert. Der Transport in die Blätter geschah schnell, desgleichen der Abbau des Antibiotikums. Wurzeln und Stengel wiesen schon drei Tage nach der Applikation keine Aktivität mehr auf, aber Saft von Blättern bewirkte nach fünf Tagen noch Hemmzonen.

Agrimycin 100, das Kombinationsprodukt von Streptomycin und Oxytetracyclin zeigte Aufnahmeeigenschaften wie Oxytetracyclin. Weiterleitung und Stabilität ähnelten aber mehr dem Streptomycin. Auffallend war die geringe Konzentration in der Pflanze. Es schien, als ob sich beide Antibiotika negativ beeinflußten. Mit Streptomycin allein wurden höhere Antibiotikaspiegel erzielt.

Novobiocin wurde nur begrenzt aufgenommen, obwohl 200 γ/ml angeboten wurden. Die Blätter enthielten Novobiocin bereits nach einem Tage, aber diese Aktivität war nur noch am dritten Tage zu beobachten. Ein Nachtransport von den Wurzeln schien nicht stattzufinden oder wurde durch Dekomposition überlagert. Wurzeln und Stengel waren noch nach 12 bzw. 8 Tagen aktiv. Das bedeutete, daß Novobiocin nicht schnell aus den Wurzeln weitergeleitet wurde und dort seine Aktivität behielt.

Thiolutin und *Endomycin* wurden nur in Spuren bzw. nicht in den Pflanzen beobachtet. Die starke Absorption von Endomycin durch Saft ließ

dieses erwarten (KRÜGER 1961 c), aber die nahezu völlige Abwesenheit von Thiolutin war überraschend. In den Guttationstropfen konnten GOPALKRISHNAN und JUMP (1952) dieses Antibiotikum ebenfalls nicht finden. In anderen Versuchen, in denen Lehm mit Thiolutin gemischt worden war und worin Tomaten für 5 bis 10 Tage wuchsen, konnten nur ganz geringe Thiolutinmengen gefunden werden (KRÜGER 1961 d). Der Boden selbst war während dieser Periode immer aktiv, so daß die Pflanzen das Antibiotikum hätten aufnehmen können.

Ob diese beiden Antibiotika nicht bzw. nur geringfügig aufgenommen oder aber sofort in inaktive Komponenten umgeformt werden, kann auf Grund der Ergebnisse der biologischen Nachweismethode nicht entschieden werden.

3. Korrelation zwischen Aufnahme, Weiterleitung, Stabilität, in vitro Aktivität und dem in vivo Effekt von Antibiotika

Die erhaltenen Resultate zeigten die unterschiedliche Aufnahme von Antibiotika durch die Tomatenpflanze sowie deren differierende Weiterleitung und Stabilität.

Eine Korrelation zwischen Absorption der Antibiotika und ihrer Azidität konnte nicht festgestellt werden. Die Annahme einer bevorzugten Aufnahme von sauren und neutralen Antibiotika (CROWDY und PRAMER 1955) hat ihre Einschränkung, wie am Beispiel des sauren Novobiocin und des neutralen Thiolutin gezeigt wurde. Basische und amphotere Antibiotika wie Streptomycin bzw. Vancomycin und Oxytetracyclin waren in größerer Konzentration zu finden.

Eine Abhängigkeit der Aufnahme vom Molekulargewicht konnte gleichfalls nicht beobachtet werden. Thiolutin und Novobiocin mit Molekulargewichten von 196 bzw. 618 wurden weniger aufgenommen als Penicillin, Erythromycin, Bacitracin und Vancomycin mit Gewichten von 356, 750, 1460 bzw. 3200.

Infolge dieser unterschiedlichen Aufnahme der Antibiotika durch die Wurzeln von Tomaten kann die Absorption nicht als ein einfacher Diffusionsvorgang erklärt werden, vielmehr wird die Pflanze aktiv daran beteiligt sein und einige Antibiotika bevorzugt aufnehmen. Eine Besprechung dieses Aspektes ist ausführlicher von GOODMAN (1959) gegeben.

Der Abbau von Antibiotika in den Pflanzen differierte beträchtlich. WINTER und SCHÖNBECK (1959) folgerten, daß Substanzen, die sehr andersartig sind als in der Pflanze vorhandene (= allochthone Substanzen), in der Pflanze nicht so schnell abgebaut werden wie solche, die den natürlich anwesenden Stoffen ähnlich sind (autochthone Substanzen). Viele der Antibiotika waren sehr stabil und könnten demnach als allochthone Substanzen bezeichnet werden, während andere, wie Penicillin und Bacitracin (letzteres sehr hochmolekular), den in der Pflanze vorhandenen sehr ähnlich sein müßten, um vom Fermentsystem schnell in den Stoffwechsel einbezogen zu werden. WINTER, PEUSS und SCHÖNBECK (1959) fanden z. B. Brenzkatechin, Resorcin und Hydrochinon in kurzer Zeit in Glycoside verwandelt.

Die Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten wird theoretischen Erwägungen zufolge davon abhängen, ob die Antibiotika an der Stelle vorhanden sind, an der sie zu wirken haben und ob sie dort für längere Zeit ihre Aktivität entfalten. Die Bekämpfung des Tomatenkrebses sollte deshalb mit solchen Antibiotika versprechend sein, die in ausreichender Menge in den Wurzeln bleiben und nicht so schnell in die Blätter transportiert werden. Die Konzentrationen, die notwendig sind, um *C. michiganense* in vitro zu hemmen, variierten von

Tabelle 3

Die Aktivität von Antibiotika in vitro gegen *Corynebacterium michiganense**)

Konzentration in E/ml bzw. γ/ml	Hemmzonen in mm													
	Bacitracin	Novobiocin	Erythromycin	Thiolutin	Vancomycin	Oleandomycin	Streptomycin-sulfat	Chlortetracyclin	Oxytetracyclin	Agrimycin 100	Penicillin G	Phytomycin	Endomycin	Polymycin B
250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,6
200	—	—	—	—	30,1	31,6	—	—	—	—	—	—	—	—
150	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
100	—	—	37,7	39,7	26,9	29,2	13,4	35,2	34,5	20,8	25,0	10,4	—	0,0
50	—	—	35,6	36,2	22,6	27,0	10,9	31,1	29,3	16,8	17,0	7,8	13,0	—
40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16,5	—	11,9	—
30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12,6	—	8,6	—
25	—	—	33,4	31,4	18,4	23,0	9,3	25,3	21,5	13,6	9,5	5,4	6,4	—
20	—	—	32,8	—	17,6	20,8	—	—	—	—	7,9	—	5,5	—
15	—	—	31,5	—	15,8	19,4	—	20,3	—	—	5,0	—	0,5	—
10	37,7	—	30,3	25,5	14,0	16,4	7,9	15,2	17,6	8,7	4,8	4,8	0,0	—
7,5	—	—	28,9	—	12,1	14,2	7,0	13,1	—	—	—	—	—	—
5,0	34,4	—	26,1	18,5	10,3	8,4	5,3	10,5	15,0	5,2	3,2	+	—	—
2,5	31,8	—	20,4	13,5	5,4	5,3	3,2	2,5	10,4	3,6	+	0,0	—	—
2,0	—	—	—	—	—	—	1,8	—	5,8	2,3	—	—	—	—
1,5	—	27,8	—	10,6	—	—	1,1	—	+	+	0,0	—	—	—
1,0	27,0	26,8	14,7	7,5	0,2	+	+	+	0,0	0,0	—	—	—	—
0,75	26,8	24,6	—	+	—	—	0,0	0,0	—	—	—	—	—	—
0,50	24,9	22,3	9,6	0,0	0,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,25	21,3	18,5	—	—	—	0,0	—	—	—	—	—	—	—	—
0,15	15,8	13,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,10	14,6	6,7	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,075	8,5	—	0,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,050	4,6	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,025	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,010	+	0,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

\+ Keine meßbare Hemmzone.

*) Durchschnitt von vier Messungen.

Antibiotikum zu Antibiotikum und betrugen 0,1 bis 150 E (γ)/ml, wie aus der Tabelle 3 ersehen werden kann.

Auf Grund der Ergebnisse des *in vitro* Testes können Bacitracin, Novobiocin und Erythromycin als die am erfolgreichsten zu applizierenden Antibiotika angesehen werden. Polymixin B, Endomycin, Phytomycin und Penicillin schienen weniger günstig zu sein. Wenn die Resultate der Aufnahme, Weiterleitung und Stabilität in die Beurteilung einer zu erwartenden Wirkung *in vivo* mit einbezogen werden, dann müssen die Antibiotika als versprechend angesehen werden, die in Wurzeln und Stengeln in ausreichender Konzentration zu finden waren. Oleandomycin und Erythromycin erfüllten diese Voraussetzungen und wurden noch nach 29 bzw. 19 Tagen in einer Quantität gefunden, die *C. michiganense* in vitro in der Entwicklung hemmten. Novobiocin, Streptomycin, Agrimycin 100, Oxytetracyclin und Vancomycin waren nur nach acht bis zwölf Tagen aktiv und könnten als mäßig brauchbar betrachtet werden. Bacitracin und Penicillin wurden sehr schnell in die Blätter transportiert und ließen die Wurzeln frei von jeder aktiven Substanz. Diese zwei Antibiotika sollten daher für eine Bekämpfung von Tomatenkrebs ohne besondere Bedeutung sein.

Die Ergebnisse von Bekämpfungsversuchen, wie sie in Tabelle 4 aus früher durchgeführten Versuchen zusammengetragen sind (KRÜGER 1959, 1961 b), zeigten das völlige Versagen von Bacitracin und Penicillin. Die hohe Aktivität von Bacitracin *in vitro* gegen *C. michiganense* war folglich ohne Wert. Das Antibiotikum war infolge schneller Weiterleitung und Dekomposition nicht an der Stelle der Infektion. Mit beiden Antibiotika war selbst keine Verzögerung des Auftretens der Welkesymptome zu erreichen.

Von Oleandomycin, Erythromycin und in geringerem Maße von Novobiocin, wurde eine größere Wirkung erwartet, weil sie nicht so schnell aus den Wurzeln abtransportiert wurden. Sowohl Oleandomycin wie Erythromycin verminderten nur die Infektionsrate (KRÜGER 1961 b). Novobiocin war trotz der geringen Konzentration in den Wurzeln und Stengeln hoch wirksam. Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß die sehr minimale Konzentration in den Pflanzen (0,3 bis 0,5 γ/ml) relativ große Hemmzonen *in vitro* bewirkte (siehe Tab. 3). Von den Antibiotika, denen man eine mittlere Wirkung voraussagen konnte, wurde eine Ausnahme beobachtet. Vancomycin, das nur acht Tage in den Wurzeln und zwölf Tage in den Stengeln festgestellt wurde, übte einen guten Effekt auf *C. michiganense* aus.

Eine Überraschung war auch die Wirkung, selbst wenn sie gering war, von Endomycin und in minderem Maße von Thiolutin *in vivo*. Beide Antibiotika waren nicht oder nur in Spuren in den Tomaten mit der Lochmethode bestimmt worden und eine Wirkung *in vivo* wurde nicht erwartet.

Diese unerwarteten Resultate mit Vancomycin, Endomycin und Thiolutin und auch mit Novobiocin ließen die Frage aufkommen, ob das Antibiotikum das einzige Agens ist, um eine Infektion zu verhindern. Es kann angenommen werden, daß durch die Einführung eines Antibiotikums in die Pflanze deren Komposition nachhaltig geändert wird, wodurch das Eindringen von Bakterien

Tabelle 4

Die Wirkung einer sechsstündigen prophylaktischen Behandlung von Tomatenpflanzen mit Antibiotika auf die Infektion durch *Corynebacterium michiganense*[1])

Antibiotika[2])	Konzentration in E/ml (γ/ml)	% Pflanzen infiziert
Novobiocin	200	2,9
Vancomycin	200	2,7
Endomycin	200	19,1
Oleandomycin	200	23,1
Chlortetracyclin	200	23,2
Erythromycin	200	27,2
Chloramphenicol	200	41,8
Kontrolle, 1958/59	0	68,0
Agrimycin 100	100	41,3
Oxytetracyclin	50	30,9
Streptomycin	150	61,7
Kontrolle, 1956/57	0	80,8
Thiolutin	200	58,3
Kontrolle (Gewächshaus)	0	91,6
Bacitracin	100	100
Penicillin	200	100
Kontrolle (Gewächshaus)	0	100

[1]) Im Freiland wurden 50 bis 80, im Gewächshaus 12 Pflanzen geprüft.

[2]) Zusammenstellung aus veröffentlichten (Krüger 1959) und nicht veröffentlichten Resultaten.

verhindert oder deren Vermehrung gedrosselt wird. Diese Annahme kann in erster Linie auf die Antibiotika Vancomycin, Endomycin, Thiolutin und Novobiocin angewandt werden und wird durch die Tatsache gestützt, daß zum Beispiel mit Streptomycin und anderen Antibiotika, die *in vitro* gegen Phytophthora und andere Pilze nicht oder kaum wirksam sind, Bekämpfungserfolge zu erreichen waren.

Ob eine Umbildung der Antibiotika in den Pflanzen in aktivere Substanzen erfolgt, bedarf noch der Prüfung. Die Umformung nicht aktiver in aktive Stoffe ist durchaus möglich und wurde für Ferulasäure durch Reznik und Urban (1957) nachgewiesen. Diese Säure wurde in Weizenblättern in Chlorogensäure umgeformt, von der Johnson und Schaal (1952) annehmen, daß sie bei Kartoffeln der Resistenzfaktor gegen Schorf ist.

Aber nicht nur eine Änderung einer Substanz kann für die Wirksamkeit verantwortlich sein, sondern auch die intensivere Bildung anderer Substanzen durch die Einführung eines Antibiotikums. Streptomycin steigerte zum Beispiel die Phenolaseaktivität in Kartoffeln (Vörös, Király und Farkas 1957) und es wurde gefolgert, daß die Phytophthorabekämpfung über die Aktivierung des Polyphenol-Polyphenolase-Systems der Pflanze erfolgte. Diese Annahme

wurde durch die fungitoxischen Eigenschaften der Polyphenolderivate unterstützt.

Welche Änderungen der Antibiotika in Pflanzen auch erfolgen mögen oder welche Auswirkungen die Antibiotika auf den Stoffwechsel der Pflanzen haben, die *in vitro* Resultate reichen kaum zur Beurteilung eines zu erwartenden *in vivo* Effektes aus. Die Antibiotika werden so unterschiedlich von den Pflanzen aufgenommen, weitergeleitet, abgebaut und sehr wahrscheinlich auch verändert, daß nur Versuche zur Bestimmung dieser Kriterien Aufschluß über die Wirkung geben können.

Zusammenfassung

1. Parallel mit Bekämpfungsversuchen des durch *C. michiganense* verursachten Tomatenkrebses mittels Antibiotika wurde deren Aufnahme, Weiterleitung und Stabilität in Pflanzen bestimmt.

2. Die Behandlung der Pflanzen erfolgte durch Aufenthalt ihrer Wurzeln in antibiotischen Lösungen für eine gesetzte Periode. Zur biologischen Analyse der Antibiotika wurde die Lochmethode verwendet.

3. Penicillin G, Streptomycin-sulfat, Oleandomycin, Erythromycin, Vancomycin-HCl, Oxytetracyclin-HCl, Bacitracin, Agrimycin 100 und Novobiocin wurden in meßbaren Quantitäten bestimmt. Von Thiolutin wurden nur Spuren und Endomycin wurde nicht gefunden.

4. Der Grad der Absorption der Antibiotika konnte mit deren Azidität oder deren Molekulargewicht nicht korreliert werden.

5. Die Weiterleitung und Stabilität variierte von Antibiotikum zu Antibiotikum. Penicillin G und Bacitracin wurden am schnellsten, Oleandomycin, Erythromycin und Novobiocin am langsamsten in die Blätter transportiert.

Bacitracin und Penicillin G waren die labilsten Antibiotika. Oleandomycin, Streptomycin und Agrimycin 100 wurden erst nach vier Wochen inaktiviert.

6. Für die meisten Antibiotika bestand kein Konzentrationsgefälle von den Wurzeln über die Stengel in die Blätter, vielmehr zeigten die Stengel oft einen niedrigeren Antibiotikaspiegel als Wurzeln und Blätter.

7. Aus diesen und aus den Resultaten von Bekämpfungsversuchen wurde versucht, eine Korrelation zwischen Aufnahme, Transport, Stabilität und *in vitro* Sensitivität und des Effektes *in vivo* gegen *C. michiganense* festzustellen. Es war nicht möglich, eine generelle Linie zu finden. Einige Antibiotika, die auf Grund von theoretischen Überlegungen als weniger versprechend angesehen wurden, erwiesen sich *in praxi* aber effektiv. Andererseits enttäuschten einige Antibiotika, die gut aufgenommen wurden und auch stabil blieben.

Summary

1. Parallel with experiments for the control of the tomato canker, caused by *C. michiganense* by means of antibiotics determinations were made of their absorption, translocation and stability in plants.

2. The plants were treated by exposing their roots to solutions of antibiotics for a given period. The hole-plate method was used for the biological analysis of the antibiotics.

3. Penicillin G, streptomycin sulphate, oleandomycin, erythromycin, vancomycin-HCl, oxytetracyclin-HCl, bacitracin, agrimycin-100, and novobiocin were determined in detectable quantities. Thiolutin was found only in traces and endomycin not at all.

4. The rate of absorption of the antibiotics could not be correlated with their acidity or their molecular weight.

5. The translocation and stability varied from one antibiotic to the other. Penicillin G and bacitracin were translocated most rapidly into the leaves and erythromycin and novobiocin most slowly.

Bacitracin and penicillin G were the most labile antibiotics. Oleandomycin, streptomycin, and agrimycin 100 were inactivated only after four weeks.

6. For most antibiotics no gradual increase or decrease of concentration from the roots, through the stems to the leaves occurred; on the contrary the stems often showed a lower antibiotic content than the roots and leaves.

7. On the basis of these results and those of experiments on control an attempt was made to find a correlation between absorption, transport, stability *in vitro* sensitivity, and the effect *in vivo* against *C. michiganense*. It was not possible to find any general line of correlation. Some antibiotics which on the basis of theoretical considerations would appear less promising nevertheless proved effective in practice. On the other hand some antibiotics that were absorbed well and remained stable yet proved disappointing.

Literaturverzeichnis

Blanchard, F. A., and V. M. Diller, 1951: Uptake of aureomycin through the roots of lima beans (*Phaseolus lunatus*). Amer. J. Bot. **38**, 111—112.

Coe, D. M., 1955: Streptomycin as a control for Downy mildew of cucurbits. Plant Dis. Reptr. **39**, 729—730.

Crosse, R., R. McWilliam, A. Rhodes, and A. T. Dunn, 1960: Antifungal action of streptomycin-copper chelate against *Phytophthora infestans* on tomato (*Lycopersicon esculentum*). Ann. appl. Biol. **48**, 270—278.

Crowdy, S. H., 1957: The uptake and translocation of griseofulvin, streptomycin and chloramphenicol in plants. Ann. appl. Biol. **45**, 208—215.

— —, and D. Pramer, 1955: Movement of antibiotics in higher plants. Chem. & Industry **7**, 160—162.

— —, J. F. Grove, H. G. Hemming, and Kathleen C. Robinson, 1956: The translocation of antibiotics in higher plants. J. exp. Bot. **7**, 42—64.

Dowler, W. M., and R. N. Goodman, 1958: Downward translocation of streptomycin in *Coleus* sp. Phytopathology **48**, 392.

Dunegan, J. C., and R. A. Wilson, 1956: Preliminary note on the downward movement of streptomycin in apple and pear tissues. Plant Dis. Reptr. **40**, 478.

Goodman, R. N., in H. S. Goldberg, 1959: Antibiotics — Their chemistry and non-medical uses. D. van Norstrand Company INC., Princeton, New Jersey, 322—448.

Gopalkrishnan, K. S., and J. A. Jump, 1952: The antibiotic activity of thiolutin in the chemotherapy of the Fusarium wilt of tomato. Phytopathology **42**, 338—339.

Granits, Josephine, und A. Janke, 1954: Über die Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten durch Antibiotika. 2. Mitt. Versuche zur Bekämpfung der durch *Corynebacterium michiganense* bewirkten Tomatenwelke mittels Penicillin.. Zbl. Bakt. II. Abtlg. **108**, 47—64.

Gray, R. A., 1958: The downward translocation of antibiotics in plants. Phytopathology **48**, 71—78.

Hodgson, W. A., 1956: Control of potato late blight with antibiotics. Amer. Potato J. **33**, 185—186. (Ref.: Rev. appl. Mycol. **35**, 921 [1956]).

Johnson, G., and L. A. Schaal, 1952: Relation of chlorogenic acid to scab resistance in potatoes. Science **115**, 627—669.

Klemmer, H. W., A. J. Riker, and O. N. Allen, 1955: Inhibition of crown gall by selected antibiotics. Phytopathology **45**, 618—625.

Krüger, W., 1957: Die Beeinflussung des biologischen Streptomycinnachweises bei Tomaten durch ein dortselbst vorkommendes Antibiotikum. Verh. IV. Intern. Pflanzenschutz-Kongreß, Hamburg 1957, Bd. **2** (Braunschweig), 1595—1600.

— —, 1959: The control of tomato canker (*Corynebacterium michiganense* [Erw. Smith] Jensen) by means of antibiotics. S. Afr. J. agric. Sci. **2**, 195—205.

— —, 1961 a: Die biologische Bestimmung von Penicillin und Streptomycin in Tomatenpflanzen. Phytopath. Z. **42**, 139—149.

— —, 1961 b: Further results for the control of tomato canker caused by *Corynebacterium michiganense* by means of antibiotics. S. Afr. J. agric. Sci. (In Vorbereitung.)

— —, 1961 c: Das Schicksal von Antibiotika in Tomatenpflanzen. I. Methoden zur Bestimmung von Antibiotika in Pflanzen. Phytopath. Z. **42**, 286—296.

— —, 1961 d: The activity of antibiotics in soils. II. Movement, stability and biological activity of antibiotics in soils and their uptake by tomato plants. S. Afr. J. agric. Sci. (Im Druck.)

Lemin, A. J., and W. E. Magee, 1957: Degradation of cycloheximide derivatives in plants. Plant Dis. Reptr. **41**, 447—448.

Mehta, P. P., D. Gottlieb, and D. Powell, 1959: Vancomycin, a potential agent for plant disease prevention. Phytopathology **49**, 177—183.

Mirzabekyan, R. O., and K. A. Menkova, 1955: Prevention and preservation of activity of antibiotics in plants in testing against phytopathogenic microorganisms. Akad. Nauk SSSR Izv. Ser. Biol. **6**, 10—19. (Zit.: Goodman, R. N., in Goldberg, H. S., 1959: Antibiotics — Their chemistry and non-medical uses. D. van Norstrand Company, INC. Princeton, New Jersey, 322—448.)

Müller, K. O., J. H. Mackay, and Janet N. Friend, 1954: Effect of streptomycin on the host-pathogen relationship of a fungal phytopathogen. Nature (London) **174**, 878—879.

Pramer, D., 1953: Observations on the uptake and translocation of five actinomycete antibiotics by cucumber seedlings. Ann appl. Biol. **40**, 617—622.

— —, 1954: The movement of chloramphenicol and streptomycin in broad bean and tomato plants. Ann. Bot. **18**, 463—470.

Reznik, H., und R. Urban, 1957: Über den Metabolismus ^{14}C-markierter Ferulasäure im Pflanzenversuch. Naturwissenschaften **44**, 13.

Vörös, J., Z. Király, and G. L. Farkas, 1957: Role of polyphenolase in streptomycin-induced resistence to *Phytophthora* in potato. Science **126**, 1178.

Winter, A. G., und F. Schönbeck, 1959: Zum Wirkstoffkreislauf Pflanze — Tier — Boden. Z. Pfl.ernährg., Düngg., Bodenkunde **84**, 11—21.

— —, H. Peuss, und F. Schönbeck, 1959: Untersuchungen über die Aufnahme organischer Substanzen durch die Wurzeln höherer Pflanzen. I. Phenolische Verbindungen. Naturwissenschaften **46**, 536—537.

Zaumeyer, W. J., and R. E. Wester, 1956: Control of Downy mildew of lima beans with streptomycin. Plant Dis. Reptr. **40**, 776—780.

— —, and S. P. Doolittle, 1956: Control of late blight of tomato with streptomycin. Phytopathology **46**, 32.

Aus dem Institut für Pflanzenschutz
der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim
Direktor: Prof. Dr. B. Rademacher

Untersuchungen über die „Kräuselkrankheit" an Hopfen (*Humulus lupulus* L.) im Tettnanger Anbaugebiet[1])

Von

K. Nuber

Mit 12 Abbildungen

Inhalt: A. Untersuchungen zur Symptomatologie und Ökologie. I. Beschreibung der Symptome; II. Ökologie, Auftreten und wirtschaftliche Bedeutung der „Kräuselkrankheit"; III. Versuch einer Differentialdiagnose; IV. Literaturbesprechung sowie Ergebnisse einer Studienreise durch Hopfenanbaugebiete in Frankreich, England und der Tschechoslowakei. — B. Untersuchungen über ein Virus als Krankheitsursache. I. Versuche zur natürlichen Übertragung der „Kräuselkrankheit"; II. Versuche zur künstlichen Übertragung der „Kräuselkrankheit"; III. Elektronenoptische Untersuchungen. — C. Befallsmindernde Maßnahmen. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

EINLEITUNG

Bereits seit den vierziger Jahren treten im Tettnanger Hopfenanbaugebiet am Bodensee Krankheitserscheinungen an Hopfen auf, deren Ursprung bisher ungeklärt war. Infolge der zeitbedingten Einschränkung des Hopfenanbaues in den Kriegsjahren blieb die Krankheit zunächst von untergeordneter Bedeutung. Erst durch die Anbauausweitung in den Jahren 1949 bis 1953 nahmen die Krankheitserscheinungen wieder zu. Die im Spätsommer 1956 unternommenen Voruntersuchungen ergaben, daß Art und Weise des Auftretens der Krankheit im Bestand, sowie die Krankheitssymptome auf eine Virose hindeuteten (Rademacher, Weil und Nuber 1958). Diese Vermutung war um so

[1]) Auszug aus einer der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim 1959 unter gleichem Titel vorgelegten Dissertation.

mehr gerechtfertigt, als Virosen mit ähnlichen Schadbildern bei Hopfen nach Literaturangaben bereits von ausländischen Anbaugebieten (England, Tschechoslowakei) bekannt sind.

A. UNTERSUCHUNGEN ZUR SYMPTOMATOLOGIE UND ÖKOLOGIE

I. Beschreibung der Symptome

Während der Vegetationsperioden 1957 bis 1959 wurde das Ausmaß des Befalls, sowie der Verlauf der Krankheit genau verfolgt. In allen Hopfengärten, in denen erkrankte Pflanzen gefunden wurden, war das Schadbild einheitlich. Die Stärke der Erkrankung variierte sowohl von Pflanze zu Pflanze als auch auf ein und derselben Pflanze während der Vegetationsperiode sehr stark. Bei der nach dem zeitlichen Auftreten vorgenommenen Symptombeschreibung wird nur von den alljährlich wiederkehrenden, charakteristischen Schadbildern kranker Pflanzen ausgegangen.

Die Fechser[1]) der im Vorjahr stark erkrankten Pflanzen sind im Frühjahr schwach und haben nur eine geringe Wurzelmasse. Die feinen Faserwurzeln fehlen fast völlig. Dies kann jedoch nicht unbedingt als charakteristisches Symptom angesehen werden, da auch durch andere Einflüsse geschwächte Stöcke solche Fechser hervorbringen.

In der Triebzahl ergaben sich zwischen gesunden und kranken Stöcken keine erfaßbaren Unterschiede. Vor dem „Ausputzen" können die kranken Stöcke nur in ganz seltenen Fällen vom geübten Beobachter an schwachen Farbunterschieden und geringfügigen Blattdeformationen erkannt werden. Erst nach dem „Ausputzen", wenn zwei bis drei Triebe an den Steigdraht geleitet sind und allmählich zu winden beginnen, zeigen sich zunächst geringe Wuchs- und Farbunterschiede im Vergleich zu gesunden Pflanzen. Die Ranken kranker Pflanzen sind heller gefärbt, und die zu diesem Zeitpunkt für den Tettnanger Frühhopfen charakteristische dunkelrote bis bläuliche Ausfärbung fehlt völlig. Wenn die Pflanzen 1,5 bis 2 m hoch sind, treten die Wuchs- und Farbunterschiede sehr deutlich in Erscheinung. Die Hauptranken sind zu diesem Zeitpunkt auch dünner als normal, die Klimmhaare ganz klein und chlorotisch. Die Blätter solcher Pflanzen sind hell- bis gelblichgrün, so daß sie in der Färbung deutlich von denen gesunder Pflanzen unterschieden sind (Abb. 1).

Die Blattadern treten an der Unterseite etwas hervor, das Gewebe erscheint dünner, ist spröde und brüchig. Hält man die Blätter gegen das Licht, so sind in schweren Fällen entlang den Blattadern halbdurchsichtige, glasig gelbliche, manchmal auch chlorotische Streifen sichtbar. Die Größe der Blätter ist stark reduziert. Die Blattränder sind tief und scharf gezähnt, der Blattrand leicht nach oben umgebogen und in schweren Fällen nach oben eingerollt. Die Blattzähnchen sind etwas verlängert, sägeblattartig verstellt und ihre Enden kanuförmig zugespitzt. Häufig kommt es zum Einreißen der Interkostalfelder. Dieses wird durch starken Wind und auch durch scharfen Spritzstrahl wesentlich gefördert,

[1]) Wurzelstück zwischen Wurzelstock und Erdoberfläche.

Abb. 1. Mitte gesundes Blatt, rechts und links kranke Blätter mit deutlich hellerer Farbe und verschmälerten Blattlappen.

so daß dann die älteren Blätter rasch zerbrechen und zum Teil ganz abfallen (Abb. 1).

Außerdem sind die Blätter stark eingebuchtet, so daß vor allem die Mittellappen verschmälert erscheinen. Die Interkostalfelder bleiben häufig in halb entwickeltem und gekräuseltem Zustand stehen. Diese Erscheinung führte zu der im Befallsgebiet allgemein gebräuchlichen Bezeichnung „Kräuselkrankheit" (Abb. 2).

Die Blätter stehen steif von der Pflanze ab (Abb. 3). Mit fortschreitendem Wuchs nehmen die Farbunterschiede zwischen gesunden und kranken Pflanzen ab, auch die übrigen Symptome zeigen sich an den später gebildeten Blättern

Abb. 2. Links gesundes, rechts krankes Blatt mit Aufhellung und Kräuselerscheinungen

nicht mehr bei allen Pflanzen deutlich, sondern es kommt zu einer Differenzierung bzw. „Maskierung" des Schadbildes.

Es wurde für zweckmäßig erachtet, im Rahmen dieser Krankheitsbeschreibung auf vier verschiedene, wenn auch nicht streng voneinander abgrenzbare Formen des Schadablaufes näher einzugehen.

1. Bei einem Teil der Pflanzen verschwinden die Farbunterschiede nicht ganz. Solche Pflanzen sind auch stärker im Wuchs gestaucht, zeigen weiterhin schwere Symptome an den Blättern, die Ranken sind bedeutend dünner. Die Seitentriebe stehen wie die Blätter steif nach oben von den Hauptranken ab und sind wie diese heller gefärbt, spröde und brüchig. Die Internodien der Seitentriebe sind stark verkürzt (Abb. 4). Die Symptome an den Blättern der Seitentriebe entsprechen denen der Blätter an den Hauptranken. Infolge der starken Wuchsstauchungen erreichen diese schwer kranken Pflanzen den oberen Spanndraht (7 bis 8 m) erst zwei bis drei Wochen später als gesunde Pflanzen. Ein Teil dieser Pflanzen erreicht den Spanndraht überhaupt nicht und fällt durch den spitzigen Wuchs, verbunden mit den bereits erwähnten anderen Symptomen, während der ganzen Vegetationsperiode im Bestand auf. Da solche Pflanzen die vegetative Phase kaum abschließen, ist der „Anflug"[1]) sehr spärlich und der Ertrag entsprechend gering.

Abb. 3. Kranke Pflanze, mit steif abstehenden, nach oben eingerollten Blättern

Abb. 4. Mitte normaler Seitentrieb, rechts und links stark verkürzte Seitentriebe kranker Pflanzen mit Verkürzung der Internodien und Kleinblättrigkeit

[1]) Auftreten der Blüten des Hopfens.

2. Bei einer zweiten Gruppe verschwinden ab Mitte Juni an den Pflanzen, die bis zu einer Wuchshöhe von etwa 3 bis 4 m deutliche Symptome zeigten, die Farbunterschiede (Abb. 5), und die neugebildeten Blätter zeigen nur noch ganz schwache, vom ungeübten Beobachter kaum erkennbare Symptome. An den unteren, älteren Blättern bleiben jedoch bei einem Teil dieser Pflanzen die Blattsymptome, wie stark reduzierte Blattgröße, spitze Blattrandzähnung, Verstellung der Blattzähnchen, nach oben umgebogene Blattränder, steifes Abstehen der ersten Seitentriebe, sehr ausgeprägt erhalten (Abb. 3). (Beginn der Differenzierung, Übersicht S. 381.)

Abb. 5. Links gesundes, rechts krankes Hopfenblatt mit deutlichen Symptomen, jedoch ohne Farbunterschiede

Bei den unteren Blättern kommt es häufig zum Einreißen der Blattspreiten, das Blattgewebe bricht teilweise aus, zum Teil treten auch Chlorosen und Nekrosen in Erscheinung, das Blattgewebe stirbt größtenteils ab, so daß die Pflanzen bis zu einer Höhe von etwa 2 m ganz „nackt" aussehen. Solche Stöcke erreichen den Spanndraht etwa 14 Tage später. Die oberen Rankenteile sehen bis zu diesem Zeitpunkt größtenteils fast normal aus, so daß man diese Pflanzen nur an den erwähnten Symptomen der unteren Rankenteile gut erkennen kann.

Nach dem Überwachsen der Ranken am Spanndraht zeigt ein Teil solcher Pflanzen jedoch wieder deutliche Symptome. An den oberen Seitentrieben sind die Internodien stark verkürzt, wobei die Triebe auch häufig verkürzt, zum Teil aber auch normal lang oder sogar verlängert erscheinen. Diese starke Verkürzung der Internodien an den Seitentrieben und die gleichzeitige Ausbildung vieler, relativ kleiner, brennesselartig aussehender Blätter, die zum Teil ganzrandig bleiben, hat zu der teilweise gebräuchlichen Bezeichnung „Nesselkrankheit" geführt. Diese Blätter sind wiederum spröde und brüchig, die Blattlappen schmal und verdreht, die Blattränder scharf gezähnt und leicht nach oben umgebogen.

Diese Kleinblättrigkeit, verbunden mit der scharfen Blattrandzähnung, die Verschmälerung der Blattlappen sowie die starke Reduzierung der Blattgröße müssen als charakteristische Symptome gegen Ende der Vegetationsperiode angesehen werden (Abb. 6).

Die vielen kleinen Blätter kranker Pflanzen ermöglichen nur einen geringen und um 10 bis 14 Tage verspäteten „Anflug". Ausdoldung und Erntezeit wer-

Abb. 6. Links kranke, rechts gesunde Pflanze kurz vor der Ernte

den entsprechend verzögert und der Ertrag geringer. Außerdem wird die Pflückarbeit erheblich erschwert.

3. Ein Teil der Pflanzen, bei denen das Schadbild an den unteren Rankenteilen erhalten bleibt, zeigt jedoch nach dem Überwachsen am Spanndraht an den oberen Rankenteilen keine deutlichen Symptome. Die Blätter an den unteren Rankenteilen fallen nicht ab. Solche Pflanzen sehen beinahe gesund aus und bringen mehr oder weniger normalen Ertrag.

4. Der weitaus größte Teil der Pflanzen, der bis zu einer Wuchshöhe von etwa 3 m die bis dahin charakteristischen Krankheitssymptome zeigt, wächst nach der erwähnten Differenzierung gesund weiter, ohne daß auch an den unteren Blättern irgendwelche Schadbilder erhalten bleiben. Solche Pflanzen sind größtenteils nach Erreichen der halben Gerüsthöhe nicht mehr von gesunden zu unterscheiden.

II. Ökologie, Auftreten und wirtschaftliche Bedeutung der „Kräuselkrankheit"

1. Einfluß von Boden, Lage und Witterung

Durch genaue Erhebungen im Anbaugebiet konnten die von RADEMACHER, WEIL und NUBER (1958) bereits erwähnten Beobachtungen bestätigt werden, daß die „Kräuselkrankheit" unabhängig von Boden und Lage sowohl in Jung- als auch in Altgärten auftritt. Von einer besonderen Sortenanfälligkeit kann nicht gesprochen werden, da die Krankheit an der zum überwiegenden Teil angebauten Sorte Tettnanger

Zusammenstellung der Krankheitssymptome im Verlauf der Vegetationsperiode

Zeitliches Auftreten	Pflanzen mit schweren Symptomen	Pflanzen mit normalen Symptomen
Beim Aufdecken	Fechser auffallend schwach	—
Beim Austrieb der Stöcke	vereinzelt Farbunterschiede	—
Beim Anleiten der Ranken	Farb- und Wuchsunterschiede, Ranken deutlich dünner, schwere Symptome auf den Blättern, stark verkürzte Internodien	leichte Farb- und Wuchsunterschiede, Ranken etwas dünner; auf den Blättern stärkere Farb- und Wuchsunterschiede sowie andere deutliche Symptome; Seitentriebe etwas verkürzt
Wuchshöhe 1,5 bis 3 m		
Wuchshöhe 3 bis 6 m	starke Wuchsstauchungen, schwere Symptome an Blättern und Seitentrieben	Beginn der „Maskierung" der Krankheit und zugleich Differenzierung der Symptomausprägung
Wuchshöhe 6 bis 8 m	Pflanzen erreichen den Spanndraht nicht oder nur sehr spät. Auffallend „spitziger" Wuchs, geringer, stark verspäteter Anflug, Kleinblättrigkeit	Pflanzen sind nur an Blattsymptomen der unteren Rankenteile zu erkennen. An den oberen Rankenteilen keine Symptome / Pflanzen im weiteren Verlauf gesund aussehend
Vom Überwachsen am Spanndraht bis zur Ernte	Pflanzen weisen Symptome an den Blättern der unteren Rankenteile auf An den oberen Rankenteilen typische Spätsymptome (Kleinblättrigkeit), „Anflug" verspätet, Ernte geringer und verzögert	

(= Schwetzinger) Frühhopfen, sowie auch an Hallertauer, Spalter und Wolnzacher beobachtet wurde.

Nach Stöhr (1957) trat die „Kräuselkrankheit" in großem Umfang mit den unter I 1 und I 2 beschriebenen Symptomen in den Jahren 1949 bis 1953 auf, während 1954 und 1955 schon ein leichter Rückgang zu verzeichnen war und häufig die unter I 3 beschriebenen Schadbilder zu beobachten waren. Im Jahre 1956 und besonders 1957 und 1959 trat sie in stärkerem Umfang wieder auf, verursachte jedoch im Vergleich zu den Hauptschadjahren keine so großen Ertragsverluste.

Diese Tatsache kann einmal damit erklärt werden, daß in die Zeitspanne mit dem stärksten Auftreten der „Kräuselkrankheit" mehrere Trockenjahre fielen, während in den Jahren, in denen ein stärkerer Rückgang der Krankheit zu verzeichnen war, extrem feuchtnasse Witterung herrschte. In solchen Jahren treten die Frühsymptome ebenso auf, kommen jedoch nicht so stark zum Durchbruch, so daß von einer „Maskierung" gesprochen werden kann. Demnach ist anzunehmen, daß die Witterung einen entscheidenden Einfluß auf die Pathogenese hat.

2. Einfluß der Spritzungen

Neuerdings ist die Praxis dazu übergegangen, in kranken und krankheitsverdächtigen Gärten bis zur Blüte nur mit organischen oder kombinierten Fungiziden gegen *Pseudoperonospora humuli* Wilf. zu spritzen, da diese eine bedeutend geringere Schockwirkung auslösen, als die bisher verwandten anorganischen Blau- und Grünkupfermittel, durch welche die krankheitsbedingte Vitalitätsschwächung und die Symptome noch wesentlich verstärkt wurden. Durch diese Maßnahme kann die deutliche Symptomausbildung etwas abgeschwächt werden.

3. Auftreten im Bestand

Genaue Kartierungen während der Jahre 1957 bis 1959, die jährlich zweimal in acht verschiedenen Gärten nach einem bestimmten Bonitierungsschema durchgeführt wurden, ergaben, daß kranke Pflanzen nesterweise zusammenstehen. Ebenso häufig stehen drei und mehr kranke Pflanzen in einer Reihe hintereinander, während die der Nachbarreihen gesund aussehen. Andererseits finden sich nicht selten kranke Pflanzen ganz vereinzelt im Bestand (Abb. 7). Ein gehäuftes Auftreten kranker Pflanzen oder „Nester" entlang den Spritzwegen oder Gartenrändern konnte nicht beobachtet werden; ebenso schwankten die Schäden an denselben Pflanzen in den einzelnen Jahren. Die Pflanzen mit den schwersten Schadbildern waren jedoch in allen Jahren größtenteils dieselben, so daß man mit Sicherheit sagen kann, daß einmal stark erkrankte Pflanzen mehrere Jahre hindurch krank bleiben, wenn auch die Ausbildung der Symptome von Jahr zu Jahr schwankt und wahrscheinlich stark von der jeweiligen Jahreswitterung abhängt.

4. Wirtschaftliche Bedeutung

In den Jahren 1950 bis 1953 erreichten die Ertragsverluste in mehreren Fällen ein solches Maß, daß die Pflanzer die kranken Pflanzen ausgruben und vernichteten oder auch ganze Gärten rodeten (STÖHR 1956). Bei einer Ertragspflücke im Jahr 1957 wurden von 150 zusammenstehenden Pflanzen, die alle mehr oder weniger starke Krankheitssymptome zeigten, 73 Simri[1]) und von 150 zusammenstehenden gesunden

[1]) Hohlmaß von 30 Liter.

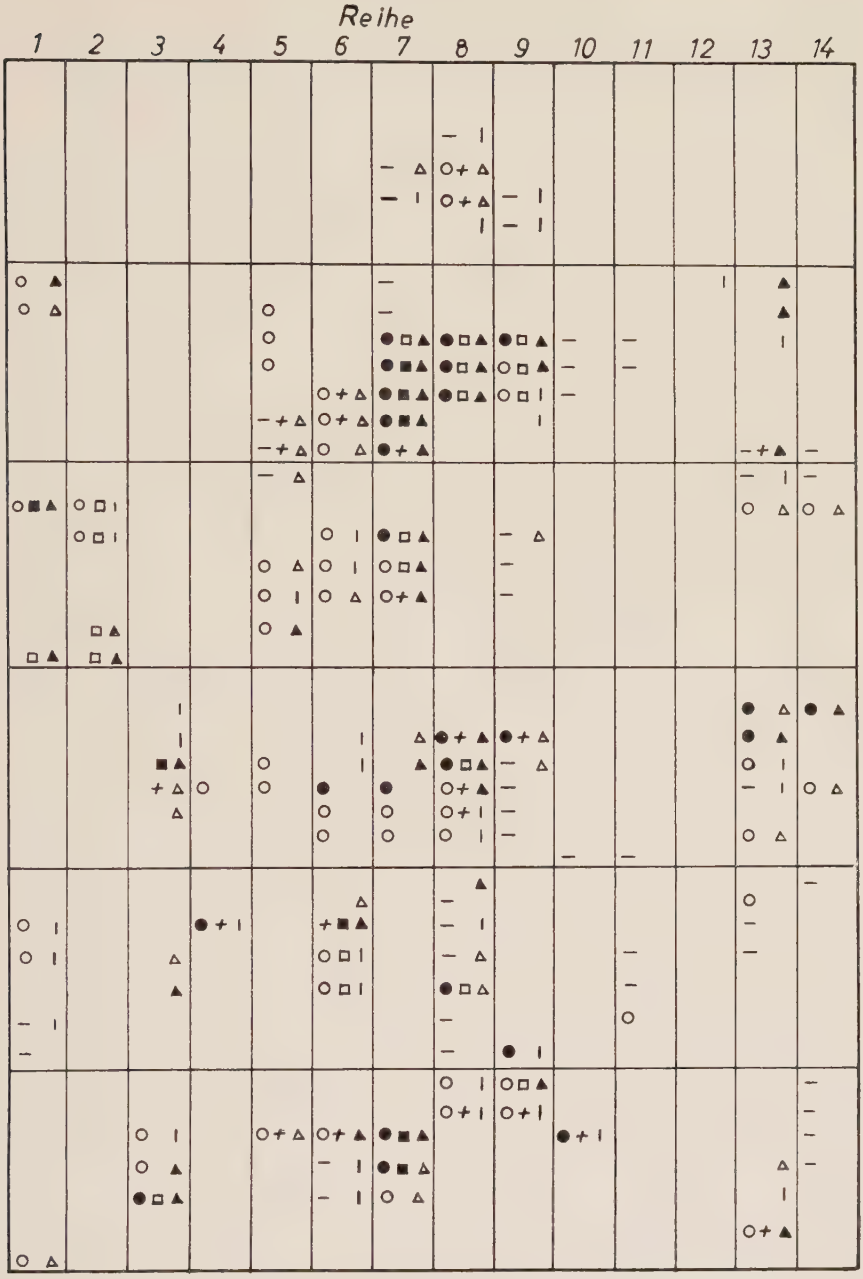


Abb. 7. Beispiel für das Auftreten der Krankheit in verschiedenen Jahren im gleichen Bestand

Stöcken 115 Simri Grünhopfen geerntet. Der Mehraufwand für das Pflücken der kranken Reben war beträchtlich, so daß neben dem erheblichen Ertragsverlust noch zusätzliche Unkosten entstanden.

III. Versuch einer Differentialdiagnose

Die durchgeführten Kartierungen zeigten, daß häufig schwer kranke Stöcke und ganz gesund aussehende Stöcke im Bestand unmittelbar nebeneinander stehen und somit ein Nahrungsmangel als Schadursache nicht anzunehmen war. Eine vergleichende Gegenüberstellung der Kräuselkrankheitssymptome mit den in der Literatur bekannten Nährstoffmangelerscheinungen an Hopfen ergab, daß deren charakteristische Schadbilder sämtlich andersartig sind als die hier in Rede stehenden.

Im pH-Wert von Erde aus der Umgebung gesunder und kranker Stöcke ließen sich keine Unterschiede finden. Daher kann die „Kräuselkrankheit" nicht in ursächlichem Zusammenhang mit der Bodenreaktion stehen.

Ebenso ist auch ein Mangel an irgendwelchen Mikronährstoffen nicht als Ursache der Krankheit anzusehen, da alle bisher im Feldbestand an anderen Kulturen auftretenden Mikronährstoffmangelerscheinungen nesterweise und nicht auch bei Einzelpflanzen, wie im Falle der „Kräuselkrankheit", vorkommen. Nach Literaturangaben haben auch noch nie irgendwelche Schadbilder Anlaß zu Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Mikronährstoffe bei Hopfen gegeben, sondern im Vordergrund des Interesses stand immer deren Einfluß auf die Brauqualität der Hopfendolden (NUBER 1959).

Aus den bisherigen Feststellungen ist zu folgern, daß die „Kräuselkrankheit" nicht auf boden- oder nährstoffbedingte Einflüsse zurückzuführen ist, sondern daß irgend ein Krankheitserreger die Ursache sein muß.

Die Untersuchungen über die Beteiligung pilzlicher und tierischer Schaderreger ergaben, daß an den oberirdischen Pflanzenteilen außer den hinreichend bekannten keine weiteren gefunden werden konnten. Auf eine etwaige Beteiligung des Hopfenzystenälchens *Heterodera humuli* Filipjev wurde bereits an anderer Stelle hingewiesen (NUBER 1958). Ob auch freilebende Nematoden in ursächlichem Zusammenhang mit der „Kräuselkrankheit" stehen, kann noch nicht gesagt werden. Dieser Frage kommt jedoch besondere Bedeutung zu, da nach neueren Literaturangaben Fälle bekannt sind, wo Virosen durch freilebende Älchen übertragen werden (HEWITT, RASKI und GOHEEN 1958). Der Verdacht, daß neben Insekten auch Nematoden als Vektoren in Betracht kommen könnten, bleibt zunächst bestehen.

Nachdem die bisher besprochenen möglichen Ursachen der „Kräuselkrankheit" ausgeschlossen werden konnten, blieb nur noch die bereits von RADEMACHER, WEIL und NUBER (1958) erörterte Vermutung einer virösen Natur der Krankheit im Vordergrund, wobei allerdings nach den bisherigen Beobachtungen eine starke Beeinflussung des Schadauftretens durch die Jahreswitterung anzunehmen ist.

IV. Literaturbesprechung sowie Ergebnisse einer Studienreise durch Hopfenanbaugebiete in England und der Tschechoslowakei

1. Vergleich der „Kräuselkrankheit" mit der Nettlehead-Krankheit

Nach KEYWORTH und DAVIES (1946) beschrieben WHITEHEAD (1870) und PERCIVAL (1895) Mißwuchserscheinungen an Hopfen in England unter dem Namen Nettlehead-Krankheit, deren Ursache zunächst auf Nematodenbefall (*Heterodera schachtii* Sch.) zurückgeführt wurde. DUFFIELD (1925) konnte jedoch nachweisen, daß diese Nematoden nicht die Ursache der Krankheit sein konnten.

Nach den Beschreibungen der Nettlehead-Krankheit von KEYWORTH und DAVIES (1946) sowie HARRIS (1950) kann man kranke Pflanzen kurz nach dem „Ausputzen" erkennen. Die ersten deutlichen Symptome zeigen sich erst nach dem Anleiten, wenn die Pflanzen zu winden beginnen. Die Ranken zeigen gestauchten Wuchs, die Blätter stehen steif von den Ranken ab und sind mattgelb, die Blattränder sind nach oben umgebogen. Die Blattadern treten an der Unterseite deutlich hervor, das Blattgewebe ist dünner und brüchig. Die Seitentriebe weisen verkürzte Internodien auf und stehen steif von den Hauptranken ab, die nicht mehr normal weiterwinden. Die gipfelständigen Blätter sind häufig ganzrandig und bleiben halb ausgebreitet und gekräuselt stehen. Die Pflanzen sehen nesselartig aus. Auf den unteren Blättern treten später gelbe Flecke auf, die größtenteils chlorotisch werden. Das Gewebe bricht häufig aus.

Die handelsübliche Sorte „Fuggle" war die weitaus anfälligste. Bei verschiedenen anderen Sorten kommt die Krankheit meistens latent vor (BEARD 1950, 1951, LEGG 1958). Nettlehead-kranke Pflanzen treten sowohl nesterweise als auch einzeln im Bestand auf. Auch das langsame Verschwinden der Symptome im Laufe der Vegetationsperiode kommt nach KEYWORTH und DAVIES (1946) sowie LEGG (1958) sehr häufig vor. Nach Angaben von KEYWORTH und HITCHCOCK (1947) konnte kein eindeutiger Zusammenhang zwischen ungünstigen Bodenverhältnissen und dem Auftreten der Krankheit gefunden werden.

Versuche von SALMON und WARE (1930) und WARE (1939) brachten Hinweise dafür, daß die Nettlehead-Krankheit durch Pfropfung übertragbar ist und daher virösen Ursprungs sein muß; der schlüssige Beweis gelang KEYWORTH und DAVIES erst 1946. Preßsaftabreibungen verliefen bisher erfolglos. Bis jetzt konnte auch noch kein Vektor ermittelt werden, obwohl von vielen Autoren (PAINE 1952, LEGG 1954, HARRIS 1958, LEGG 1959) vermutet wird, daß das Virus durch irgendwelche Insekten von kranken Pflanzen außerhalb des Hopfengartens übertragen wird. Ebenso verliefen Übertragungsversuche mit „Älchen" bisher negativ (LEGG und ORMEROD 1958).

Auf einer Studienreise durch das Hopfenanbaugebiet in Südengland Anfang Juli 1958 hatte Verfasser Gelegenheit die Symptome und die Art des Auftretens der Nettlehead-Krankheit bei Besichtigung von Hopfengärten näher kennenzulernen. Dadurch wurde die Vermutung erhärtet, daß das Schadbild der „Kräuselkrankheit" mit dem der Nettlehead-Krankheit weitgehend übereinstimmt. Auch andere Eigenarten, wie: Auftreten im Bestand, stark schwankendes Auftreten

von Jahr zu Jahr, „Maskierung" der Symptome u. a. decken sich völlig mit den auch für die „Kräuselkrankheit" beobachteten Kriterien.

Ein wirklicher Symptomunterschied besteht nur darin, daß stark Nettlehead-kranke Pflanzen von der Aufleitschnur abfallen, während „kräuselkranke" Pflanzen am Steigdraht emporwinden. Dieses abweichende Verhalten kann damit erklärt werden, daß das in England übliche Schrägaufleiten der Ranken deren Winden erschwert bzw. bei kranken Pflanzen unmöglich macht. Außerdem beträgt die Gerüsthöhe in England nur 4 bis 5 m, da die dort angebauten Sorten nicht so kräftig im Wuchs sind und auch nicht so in die Höhe streben wie die deutschen Sorten.

2. Vergleich der „Kräuselkrankheit" mit der Kaderavost-Krankheit

Nach bisherigen Erkenntnissen ist die in der Tschechoslowakei von BLATTNY (1930) unter dem Namen Kaderavost-Krankheit beschriebene Virose mit der englischen Nettlehead-Krankheit wahrscheinlich identisch (BLATTNY und OSVALD 1949, KLINKOWSKI 1954, ZATTLER 1956). Nach Angaben von BLATTNY und OSVALD (1949) wird die Kaderavost-Krankheit durch einen Viruskomplex hervorgerufen, an dem vier verschiedene Viren beteiligt sein sollen. Diese Annahme beruht jedoch nur auf kleinen symptomatologischen Unterschieden. Nach neueren Berichten von BLATTNY (1958) konnte der Nachweis eines komplexen virösen Ursprungs der Kaderavost-Krankheit nämlich noch nicht erbracht werden, die symptomatologischen Abweichungen müssen auf ökologische Ursachen zurückgeführt werden.

Nach Beschreibungen von BLATTNY (1930) sowie von BLATTNY und OSVALD (1949) zeigen Kaderavost-kranke Pflanzen gestauchten Wuchs, glasiggrünliche oder gelbliche, steif von den Hauptranken abstehende Blätter. Die Blattgröße ist reduziert, die Blattränder sind tief und scharf gezähnt, die Blattzähnchen sind nadelartig zugespitzt und verdreht, das Blattgewebe ist dünn, spröde und brüchig. „Die Blätter kleppern." Stark erkrankte Pflanzen erreichen die Gerüsthöhe nicht, die Internodien der Seitentriebe sind verkürzt. An weniger stark erkrankten Pflanzen, welche die Gerüsthöhe erreichen, bilden sich an den oberen Rankenteilen viele kleine Blätter. Der „Anflug" wird sehr verzögert und der Ertrag ist bedeutend geringer; die Dolden sind nicht ganz geschlossen.

Vergleicht man die charakteristischen Kaderavost-Krankheitssymptome nach der genauen Beschreibung mit denen der „Kräuselkrankheit", so läßt sich symptomatologisch eine völlige Übereinstimmung erkennen.

Um Klarheit zu gewinnen, wurden im August 1958 gelegentlich einer Studienreise in die Tschechoslowakei verschiedene kranke Anlagen im Hopfenanbaugebiet um Saaz besichtigt. Dadurch wurde die Annahme bestätigt, daß die dortigen Krankheitserscheinungen mit denen der „Kräuselkrankheit" völlig identisch sind.

Auch die übrigen Kriterien der Kaderavost-Krankheit, wie von Jahr zu Jahr stark schwankendes Auftreten, „Maskierung" der Symptome im Laufe der Vegetationsperiode, Art und Weise des Vorkommens im Bestand, stark vermindertes Auftreten in den letzten feucht-nassen Jahren decken sich völlig mit den auch für die „Kräuselkrankheit" beobachteten Eigenarten.

Nach dem Vergleich der Tettnanger „Kräuselkrankheit" mit der Kaderavost-Krankheit und der Nettlehead-Krankheit — allerdings unter Berücksichtigung der meines Erachtens nach sorten- und anbaubedingten Verschiedenheiten — darf man eine völlige symptomatologische Identität annehmen. Es ergibt sich ein deutlicher Hinweis, wenn auch noch kein Beweis, daß die „Kräuselkrankheit" virösen Ursprungs ist.

B. UNTERSUCHUNGEN ÜBER EIN VIRUS ALS MÖGLICHE KRANKHEITSURSACHE

I. Versuche zur natürlichen Übertragung der „Kräuselkrankheit"

1. Versuche zur Übertragung durch das Pflanzgut

Da die Hopfenpflanze ausschließlich vegetativ durch Fechser vermehrt wird, sollte zunächst geprüft werden, ob die Krankheit durch Pflanzgut übertragen werden kann.

Material und Methodik: Von 1957 im Anbaugebiet markierten „kranken"[1]) Pflanzen wurden im Frühjahr 1958 die Fechser entnommen, einzeln verpackt und in Hohenheim in einer Versuchsanlage (insgesamt 60 Stöcke) ausgepflanzt. Daneben wurden auch Fechser von 1957 gesund[1]) aussehenden Stöcken eingelegt.

Bis zu einer Wuchshöhe von etwa 1 m waren keine deutlichen Symptome an dem Aufwuchs der „kranken" Fechser zu beobachten. Anfang Juni zeigten neun Jungpflanzen deutliche Symptome, 14 wiesen nur leichte Schadbilder auf, die übrigen 37 sahen gesund aus. Im Verlauf der Vegetationsperiode verwuchsen sich die Symptome, so daß eine „Maskierung" der „Kräuselkrankheit" mit Sicherheit angenommen werden muß. Von den neun Jungpflanzen mit deutlichen Schadbildern zeigten Ende August nur noch fünf charakteristische, die restlichen vier lediglich leichte Symptome (Abb. 8). Alle 14 Pflanzen, die im Juni leicht krank waren, sahen normal aus.

Im Jahre 1959 zeigten alle Pflanzen, die 1958 krank waren, mehr oder weniger stark ausgeprägte Symptome. Außerdem wiesen weitere 17 Pflanzen zunächst schwache Schadbilder auf, die jedoch im Laufe des Sommers völlig verschwanden.

Wenn die „Kräuselkrankheit" auch nur in einem Teil der Fälle an den aus Fechsern „kranker" Stöcke erwachsener Jungpflanzen auftrat, so ist damit doch die Übertragung der Krankheit durch das Pflanzgut erwiesen.

[1]) Im weiteren Verlauf der Arbeit werden Pflanzenteile, die von kranken Stöcken aus dem Anbaugebiet stammen, als „krank", und Pflanzenteile, die von gesund aussehenden Pflanzen stammen, als „gesund" bezeichnet.

Abb. 8. Links gesund aussehende, rechts „kräuselkranke" Hopfenpflanze auf dem Versuchsfeld in Hohenheim (August 1958)

Abb. 9. Steckling mit deutlichen Krankheitssymptomen (September 1958)

2. Bewurzelung von Seitentrieben

Material und Methodik: Von sehr „kranken" und auch von „gesunden" Pflanzen im Anbaugebiet wurden während der Vegetationsperioden 1957 und 1958 Seitentriebe entnommen und in einem Torf-Sand-Gemisch zur Bewurzelung gebracht.

Bei etwa der Hälfte dieser Stecklinge kamen nach dem Abfallen der Blätter aus den Blattachseln junge Triebe hervor, die häufig eine Höhe von 2 bis 3 m erreichten. Ungefähr 30 % der Pflanzen, die aus „kranken" Seitentrieben herangezogen wurden, zeigten schwache, ungefähr 10 % deutliche Krankheitssymptome (Abb. 9). Die übrigen 60 % der Pflanzen aus „kranken" Seitentrieben zeigten keine Unterschiede im Vergleich zu den aus „gesunden" Trieben gezogenen Stecklingen, die alle normal aufwuchsen.

Diese Versuche zeigen, daß die „Kräuselkrankheit" auch durch ergrünte vegetative Teile übertragbar ist, und daß nach der Bewurzelung an den neu gebildeten Blättern die gleichen Krankheitssymptome erscheinen wie an den Mutterpflanzen, eine Bestätigung, daß der Krankheitserreger mit dem lebenden Gewebe verschleppt wird.

II. Versuche zur künstlichen Übertragung der „Kräuselkrankheit"

1. Versuche zur Übertragung durch Pfropfung

Material und Methodik: Bei einer Wuchshöhe von 2 bis 3 m wurden die zu pfropfenden Triebe jeweils um vier bis fünf Internodien eingekürzt, 0,5 cm oberhalb eines Knotens abgeschnitten und ein 3 bis 4 cm langer Längsschnitt durch die Mitte der Ranke geführt. Das „Reis" (= Triebstück mit zwei Internodien und drei Knoten) wurde im Bereich eines Knotens keilförmig zugeschnitten und so in den Spalt eingeschoben, daß die beiden Knoten sich deckten. Dabei mußte darauf geachtet werden, daß Unterlage und „Reis" etwa gleich dick waren. Die auseinanderspreizenden Enden des keilförmig zugespitzten „Reises" wurden mit Insektennadeln in der Unterlage festgeheftet. Die Pfropfstelle wurde nach Implantation mit feuchtem Bast umbunden und in nasse Watte eingewickelt. Um das rasche Austrocknen der Watte zu vermeiden, wurde diese mit Cellophanpapier umgeben und unten fest und oben etwas lockerer zugebunden, damit die Watte durch Zugießen von Wasser während der ersten vier bis fünf Tage ständig feucht gehalten werden konnte.

a) Pfropfung von „gesunden Reisern" auf kranke Pflanzen

In einer Hopfenanlage im Anbaugebiet wurden auf je eine Ranke von 18 sehr kranken Pflanzen ein „gesundes" Reis aufgepfropft. Von diesen 18 Pfropfungen waren nach zehn Tagen bereits fünf abgestorben, vier Reiser waren noch frisch, ihre Blätter jedoch abgefallen. Bei den restlichen neun waren die Blätter am oberen Knoten ausgetrocknet, die am mittleren dagegen noch frisch. Aus den Blattachseln der Knoten kamen bereits kurze Seitentriebe hervor. Diese wuchsen im Verlauf der Vegetationsperiode an allen „Reisern" gut. Der durchschnittliche Zuwachs betrug 2,5 bis 3,5 m, einige Triebe erreichten eine Länge von 3,7 bis 4 m. Die Blätter an diesen Seitentrieben zeigten deutliche Krankheitssymptome: sie waren sämtlich in der Größe reduziert, zeigten deutlich verschmälerte Blattlappen und tief eingeschnittene, spitzige Blattrandzähnung und vereinzelt leicht nach oben umgebogene Blattränder und hellere Farbe. Die Interkostalfelder waren jedoch nicht gekräuselt, das Blattgewebe turgeszent und nicht spröde und brüchig. Die nicht gepfropften Ranken der kranken Stöcke zeigten während der ganzen Vegetationsperiode deutliche Symptome. Die Mutterpflanzen der Reiser sahen den ganzen Sommer über gesund aus (Abb. 10).

Abb. 10. Pfropfstelle und Seitentriebe eines ursprünglich „gesunden", auf eine kranke Pflanze aufgepfropften „Reises". Blätter zeigen deutliche Krankheitssymptome (August 1957)

Die symptomatologischen Befunde an den neu gebildeten Blättern dieser Pfropfungen deuten darauf hin, daß es sich in den vorliegenden Fällen um eine Übertragung der Krankheit von der „kräuselkranken" Unterlage auf das „gesunde" Pfropfreis handelt. Der schlüssige Beweis der Übertragbarkeit der „Kräuselkrankheit" ist damit freilich noch nicht erbracht, da nicht alle charakteristischen Krankheitssymptome auftraten, die Reiser bereits infiziert sein konnten und Übertragungsmöglichkeit durch Insekten bestand.

Dennoch läßt sich nicht übersehen, daß vieles für eine gelungene Übertragung spricht.

b) Pfropfungen von „kräuselkranken Reisern" auf gesunde Pflanzen

Über 50 gesunde Pflanzen, sowohl im Gewächshaus als auch im Freiland wurden 1958 mit „kräuselkranken Reisern" nach der gleichen Methode gepfropft. Sie blieben jedoch alle gesund und zeigten auch 1959 keinerlei Krankheitserscheinungen. Es muß angenommen werden, daß eine lange Inkubationszeit erforderlich ist, oder die Krankheit zunächst längere Zeit latent auftritt, wie das auch bei der Nettlehead- und Kaderavostkrankheit der Fall ist.

c) Pfropfungen von Testpflanzen mit „kräuselkranken Reisern".

Material und Methodik: An der Basis zugespitzte „kranke Reiser" wurden unten in das Mark von *Nicotiana tabacum* var. Samsun, *Nicotiana glutinosa, Chenopodium album, Chenopodium quinoa, Chenopodium amaranticolor, Datura stramonium, Datura metel, Matthiola incana, Capsicum annuum, Physalis franchetii, Nicandra physaloides, Cucumis sativus* Sorte Delikateß, *Solanum nigrum, Vigna sinensis, Solanum demissum* Bastard A_6 eingesetzt und anschließend die Pflanzen jeweils zehn Tage in einer feuchten Kammer aufgestellt. Die „Reiser" blieben drei bis zwölf Tage frisch.

Auch nach längerem Stehen im Gewächshaus (bis acht Wochen) konnten keinerlei Symptome an den gepfropften Pflanzen festgestellt werden.

2. Versuche zur Übertragung mit Preßsaft

Material und Methodik: Im Verlauf der Vegetationsperioden 1957 und 1958 wurden zu verschiedenen Zeiten aus „kräuselkranken" Hopfenblättern Preßsäfte durch Zerreiben im Mörser bzw. Zerkleinern im Fleischwolf bei Zimmertemperatur hergestellt. Sowohl Rohsaft, Überstände von zentrifugiertem Rohsaft als auch mit verschiedenen Zusätzen versehener Preßsaft wurden als Inokulum verwendet. Als Zusätze wurde teilweise auch Dikaliumhydrogenphosphat (K_2HPO_4) oder Natriumsulfit (Na_2SO_3) verwendet, da damit nach Angaben von SCHMELZER (1957) und anderen Autoren der Infektionserfolg erhöht werden kann. In einigen Fällen wurden die Testpflanzen vor der Inokulation einige Zeit im Dunkeln gehalten.

Die Inokulation erfolgte im Gewächshaus an trüben Tagen oder in den Abendstunden auf möglichst junge Pflanzen (2- bis 8-Blattstadium) unter Verwendung von Karborundpulver (Feinheitsgrad 500) und eines Glasspatels. Nach der Inokulation wurden die abgeriebenen Blätter mit Wasser abgespült, und die Pflanzen für 5 bis 8 Stunden in eine feuchte Kammer gestellt.

Von folgendem Sortiment wurden zum Teil 3 bis 5, häufig bis zu 20 Pflanzen abgerieben.

Phaseolus vulgaris L. (Sorte Saxa)
Nicotiana tabacum L. (var. Samsun)
Nicotiana tabacum L. (var. White Burley)
Nicotiana langsdorffii Schrank.
Datura stramonium L.
Datura innoxia L.
Cucumis sativus L. (Sorte Delikateß)
Nicotiana tabacum L. (var. Bushi Bugli)
Nicotiana glutinosa L.
Nicotiana silvestris Spegaz u. Comes
Datura metel L.
Physalis franchetii Mast.
Physalis floridana Lam.
Humulus japonicus Sieb. u. Zucc.
Humulus foliis variegatis Miq. Ann. Mus.
Chenopodium album L.
Chenopodium amaranticolor Coste u. Reyn
Matthiola annua Sweet
Atropa belladonna L.
Sanvitalia praecumbens Lam.
Cychorium intybus L.
Capsicum annuum L.
Solanum demissum-Bastard A_6 Köhler
Vigna sinensis Endl. u. Hassk.
Humulus lupulus L.
Urtica dioica L.
Urtica urens L.
Chenopodium quinoa Willd.
Convolvulus tricolor L.
Gomphrena globosa L.
Nicandra physaloides Gärtner
Hyoscyamus niger L.
Helianthus annuus L.
Solanum nigrum L.
Solanum demissum Lindl.

Bei allen durchgeführten Versuchen konnte auf den inokulierten Pflanzen auch nach längerem Abwarten (6 bis 8 Wochen) keine Symptomausbildung beobachtet werden.

Die Untersuchungen zeigen, daß die „Kräuselkrankheit" durch Preßsaft auf keine der verwendeten 35 Testpflanzenarten beziehungsweise Varietäten übertragen werden konnte.

3. Versuche zur Übertragung mit *Cuscuta*

Material und Methodik: Samen von *Cuscuta europaea* L., die an Hopfen parasitieren kann (Korsmo 1930), wurden in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier zum Keimen gebracht, zunächst an Brennesseln und dann an „kräuselkranken" Hopfenpflanzen im Feldbestand angelegt. Nachdem die Seide den Anschluß an den Wirt erreicht und längere Ranken ausgebildet hatte, wurden die parasitierten Hopfentriebe abgeschnitten, im Gewächshaus in wassergefüllte Gefäße gestellt und die Seidenranken an gesunde Pflanzen angeleitet.

Nach der erwähnten Methode wurden im Juli und August 1957 und im Juli 1958 jeweils Seidensprosse an zehn Hopfenpflanzen und an je fünf Pflanzen von *Urtica dioica* L. und *Urtica urens* L. angeleitet. In allen Fällen kam es zu einer Verbindung mit der Testpflanze, bevor die „kräuselkranken" Hopfentriebe abstarben.

Sämtliche Pflanzen, die 1957 bzw. 1958 zu diesen Versuchen verwendet worden waren, trieben 1958 und 1959 wieder aus, doch waren auch während dieser Vegetationsperioden keine Schadbilder festzustellen.

Eine Übertragung der „Kräuselkrankheit durch *Cuscuta europaea* konnte demnach in diesen allerdings beschränkten Versuchen nicht nachgewiesen werden.

III. Elektronenoptische Untersuchungen

Mit welcher Sicherheit sich Viren mit Hilfe des Elektronenmikroskops bei Anwendung der Exsudatmethode (Johnson 1951) nachweisen lassen, ist noch nicht festgestellt worden, jedoch kann bei Virosen oder vermutlichen Virus-

krankheiten, die mit anderen Nachweismethoden nicht sicher oder nur durch langwierige Verfahren erkannt werden können, eine Diagnose mit Hilfe des Elektronenmikroskops sehr wertvoll sein (BRANDES und PAUL 1957). Daher wurde auch bei den Untersuchungen der „Kräuselkrankheit" das Elektronenmikroskop zu Hilfe gezogen.

1. Untersuchung von Exsudaten

Material und Methodik: Im Jahre 1957 wurden im Abstand von zwei bis drei Wochen während der ganzen Vegetationsperiode sowohl „kräuselkranke" Blätter als auch Blätter von gesund aussehenden Pflanzen nach der von JOHNSON (1951) beschriebenen Methode exsudiert und die Präparate in einem elektromagnetischen Elektronenmikroskop[1]) (Fabrikat Bosch) durchgesehen. Als Objektträger dienten mit einer Kollodium- bzw. Movitalmembran belegte Kupfernetzchen; die Schrägbedampfung erfolgte mit Platin-Iridium unter einem Winkel von 30°.

Bei der Durchsicht der Präparate im Elektronenmikroskop stellte es sich heraus, daß im größten Teil der Exsudate, die von „kräuselkranken" Blättern stammten, stäbchenförmige Gebilde gefunden wurden (Abb. 11). Zum Teil kam es aber auch vor, daß gegen alle Erwartung in solchen Präparaten keine Teilchen zu finden waren. Der Grund dafür dürfte eine zu geringe Konzentration des Virus im exsudierten Gewebe sein oder auch die häufig störende Verunreinigung der Präparate durch plasmatische Stoffe.

In Exsudaten, die von gesund aussehenden Blättern stammten, wurden teilweise die gleichen Teilchen beobachtet. Dies deutet darauf hin, daß das Virus auch latent in den Pflanzen vorkommen kann, und es nicht unbedingt zur Ausprägung von Krankheitssymptomen kommen muß. Diese Vermutung liegt sehr nahe, da auch von der Nettlehead-krankheit häufig ein latentes Auftreten durch Pfropfversuche nachgewiesen wurde (LEGG 1958).

Abb. 11. Stäbchenförmige Partikeln in Exsudaten kranker Hopfenblätter (Sommer 1957). Vergr. etwa 20 000fach

[1]) Hier möchte ich dem Direktor des Instituts für Physik und Meteorologie der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim, Herrn Prof. Dr. W. RENTSCHLER, für die Arbeitsmöglichkeit am EM sowie Frl. Dr. I. GÜNTHER vom gleichen Institut für die Durchsicht der Präparate und wertvollen Anregungen besten Dank sagen. Das EM ist eine Leihgabe der Deutschen Forschungsgemeinschaft; ich bin daher auch dieser zu Dank verpflichtet.

Nach Aussagen von Blattny (1958) tritt auch die Kaderavostkrankheit sehr häufig latent auf. Bei beiden Krankheiten haben jedoch noch keine elektronenoptischen Untersuchungen stattgefunden.

Von beiden Blattgruppen („kräuselkranke" und gesund aussehende Blätter) wurden 1957 etwa gleichviel Präparate untersucht. Genaue zahlenmäßige Angaben über die Häufigkeit des Vorhandenseins von Viren in den verschiedenen Präparaten können wegen der Mängel, die heute noch diesem Präparations- und Untersuchungsverfahren anhaften, nicht gemacht werden. Es konnte jedoch immer festgestellt werden, daß solche Viruspartikeln in Exsudaten „kräuselkranker" Blätter häufiger zu finden waren als bei Verwendung von Blättern gesund aussehender Pflanzen. Ein Unterschied in Form und Größe aus den beiden Blattgruppen konnte nicht nachgewiesen werden.

2. Vermessung der gefundenen Teilchen

Methodik: Alle gefundenen stäbchenförmigen Gebilde wurden 1957 bei einer elektronenoptischen Vergrößerung von etwa 8000 aufgenommen. Die genaue Bestimmung der für die Aufnahmen benutzten elektronenmikroskopischen Vergrößerung erfolgte durch wiederholtes Fotografieren und Vermessen von Oberflächenabdrücken von Spektralgittern. Die Virusaufnahmen wurden mit einem Vergrößerungsapparat (Leitz Focomat) auf 60 000 bzw. 40 000fach nachvergrößert und die Projektionsbilder nachgezeichnet und vermessen. Nach Angaben von Brandes und Paul (1957) sind nach dieser Methode die Fehler bei der Projektion sehr gering, da die Einstellung des Projektionsgerätes unverändert bleibt. Der „individuelle Meßfehler" wurde durch dreimaliges Nachzeichnen und Vermessen der einzelnen Teilchen und Verwendung des daraus sich ergebenden Mittelwertes möglichst klein zu halten versucht.

Die Auswertung und Darstellung der Meßergebnisse wurde nach der von Brandes und Paul (1957) näher erörterten, und wie die Veröffentlichungen einer Reihe von Autoren zeigen, bei solchen Untersuchungen auch allgemein angewandte Methode, vorgenommen. Als Klassenbreite wurde der Wert von 30 mμ gewählt.

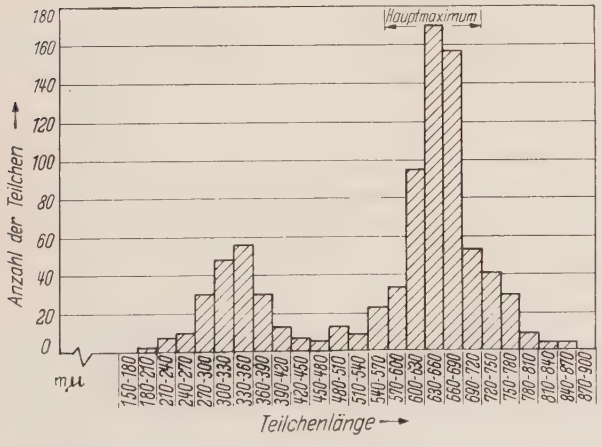


Abb. 12. Längenverteilung von 831 vermessenen, in Hopfen gefundenen Virusteilchen nach Messungen im Sommer 1958

In Abbildung 12 ist die Längenverteilung von insgesamt 831 vermessenen Teilchen dargestellt.

Dieses Treppenpolygon läßt eine deutliche Gruppierung (Hauptmaximum) der Teilchen um einen Wert erkennen, dem besondere Bedeutung in Beziehung zu der von Bode und Köhler (1952) erörterten „Normallänge" von Viren zukommt. Neben den unregelmäßigen Längen in wechselnder Zahl tritt auch noch ein

weiteres kleines Maximum auf, dessen Teilchen etwa der halben Länge der Teilchen des „Hauptmaximums" entsprechen.

Da die Klasseneinteilung willkürlich gewählt wurde, kann zur näheren Charakterisierung der Verteilung nicht nur die Klasse mit der größten Teilchenzahl angegeben werden. Vielmehr muß in solchen Fällen eine Mittelwertsberechnung durchgeführt werden. Wegen der zwei verschiedenen Maxima müßte streng genommen eine Häufigkeitsanalyse vorgenommen werden.

Wenn aber die Maxima so deutlich getrennt sind wie in diesem Fall, so genügt es zur hinreichend genauen Charakterisierung der mittleren Längen der Virusteilchen, wie die Berechnung der „Normallänge" bei einer Anzahl anderer Viren durch verschiedene Autoren zeigen und auch BRANDES und PAUL (1957) darlegen, wenn zur Berechnung der „Normallänge" das „Hauptmaximum" herangezogen wird.

Im vorliegenden Fall wurde die Klasse mit den meisten Teilchen und je zwei symmetrisch um diese liegenden zur Mittelwertsberechnung verwendet. Im Bereich dieses „Hauptmaximums" (520 bis 720 mμ) liegen 505 = 60,7 % aller vermessenen Teilchen.

Für deren mittlere Länge ergab sich 651 mμ. Für P = 95 % ist der Vertrauensbereich des Mittelwertes 651 ± 2,8 mμ (RENTSCHLER 1957). Die Normallänge für das in Hopfen gefundene Virus beträgt demnach 651 ± 2,8 mμ.

Die elektronenoptischen Untersuchungen wurden während der Vegetationsperiode 1958 am Institut für Landwirtschaftliche Virusforschung der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig von Herrn Dr. J. BRANDES freundlicherweise nachgeprüft und fortgesetzt. Von Juni bis Oktober wurden im Abstand von drei bis vier Wochen „kräuselkranke" und auch Blätter gesund aussehender Pflanzen nach Braunschweig gesandt und von diesen Exsudate nach der von JOHNSON (1951) beschriebenen Methode hergestellt und im dortigen Elektronenmikroskop (AEG/EM 8/2) durchgesehen. Die Schrägbedampfung erfolgte mit Palladium.

Im größten Teil der Exsudate, die von Blättern „kräuselkranker" Pflanzen stammten, wurden Virusteilchen gefunden. Auch 1958 wurden in Exsudaten von gesund aussehenden Blättern teilweise Viruspartikeln festgestellt. Die Vermessung der gefundenen Viren ergab eine „Normallänge" von etwa 650 mμ.

Die Meßergebnisse beider Untersuchungsjahre 1957 und 1958 („Normallänge" 651 ± 2,8 mμ bzw. etwa 650 mμ) stimmen gut überein. Daraus läßt sich schließen, daß es sich bei dem untersuchten Material augenscheinlich um ein einheitliches in beiden Jahren vorkommendes Virus handelt.

Auf Grund der elektronenoptischen Befunde kann allerdings nicht mit Sicherheit gesagt werden, daß die gefundenen Viren tatsächlich in ursächlichem Zusammenhang mit der „Kräuselkrankheit" stehen, da es nicht ausgeschlossen ist, daß es sich bei diesen Teilchen um ein latentes, nicht pathogenes Virus handelt, das hauptsächlich in „kräuselkranken" Blättern lokalisiert ist. Jedoch bekräftigen diese Untersuchungen neben den anderen Feststellungen die Vermutung sehr stark, daß die „Kräuselkrankheit" des Hopfens virösen Ursprungs ist.

Zur endgültigen Diagnose kann jedoch auf den schlüssigen biologischen Test nicht verzichtet werden.

C. BEFALLSMINDERNDE MASSNAHMEN

Aus dem gelungenen Nachweis, daß die „Kräuselkrankheit" durch Fechser übertragbar ist, ergibt sich für die Praxis die unumgängliche Notwendigkeit, bei einer Neubepflanzung nur Fechser aus bereits mehrere Jahre hindurch einwandfrei gesund befundenen Anlagen zu verwenden! Da einmal schwer erkrankte Stöcke größtenteils mehrere Jahre hindurch krank bleiben, ist wohl anzunehmen, daß solche Pflanzen als Infektionsquelle dienen können. Stark kranke Pflanzen müssen daher sofort nach ihrer Identifizierung ausgehauen und verbrannt werden. Ebenso sollte auch mit den Stöcken, die mehrere Jahre hindurch schwache Symptome zeigten, verfahren werden, auch wenn keine Ertragsminderung durch die Krankheit verursacht wurde, da ein latentes Vorkommen der Krankheit anzunehmen ist. Die entstandenen Fehlstellen können erfahrungsgemäß in beiden Fällen mit gesunden Fechsern neu bepflanzt werden.

Zur Ermittlung befallsfreier Anlagen müßte eine Reihe von Hopfengärten mindestens drei Jahre hindurch zweimal jährlich auf „kräuselkranke" Stöcke sorgfältig überprüft werden, und jeweils die ermittelten kranken und verdächtigen Pflanzen ausgehauen und verbrannt werden. Aus solchen anerkannt gesunden Anlagen könnte dann gesundes Pflanzgut entnommen und dadurch der Hauptverbreitungsgefahr — nämlich durch das Pflanzgut — wirkungsvoll begegnet werden.

In England werden diese Maßnahmen bereits seit mehreren Jahren erfolgreich durchgeführt (Thompson 1958). Auch im Elsaß (Hopfenanbaugebiet um Straßburg) werden die gleichen Maßnahmen gegen die dort auftretende Mosaikkrankheit seit zwei Jahren auf freiwilliger Basis durchgeführt. Nach Aussagen von Vuittenez (1958) erscheint diese Maßnahme nach den bisherigen Erfahrungen erfolgversprechend. Auch in der Tschechoslowakei versucht man durch Aushauen der kranken Pflanzen im Bestand und durch Roden stark erkrankter Anlagen der Kaderavostkrankheit zu begegnen (Blattny 1958). Mit dieser mühevollen, nach den Erfahrungen im Ausland aber erfolgversprechenden Maßnahme müßte, im Interesse der Gesunderhaltung des Hopfenbaues, so rasch wie möglich auch im Tettnanger Anbaugebiet begonnen werden. Nach Stöhr (1957) erscheint es bei „kräuselkranken" Hopfengärten geraten, die Anlagen normal und keinesfalls überaus stark zu düngen. Daneben sind zur *Peronospora*-Bekämpfung in solchen Gärten bis zur Blüte organische Fungizide und nach der Blüte kombinierte Spritzmittel (Kupferpräparat + organisches Fungizid) zu verwenden. Nur bei starkem Pilzbefall sollten Grün- oder Blaukupfermittel zur Bekämpfung eingesetzt werden.

Endgültige Empfehlungen für die Verhütung und Bekämpfung der „Kräuselkrankheit" werden sich erst geben lassen, wenn die Fragen des Überträgers und der Übertragungsweise geklärt sind.

Zusammenfassung

1. An Hand von 1957 bis 1959 durchgeführten Untersuchungen im Tettnanger Hopfenanbaugebiet am Bodensee wurde Symptomatologie und Ökologie der „Kräuselkrankheit" an Hopfen beschrieben und versucht, deren Ursachen und Pathogenese festzustellen, sowie befallsmindernde Maßnahmen zu erarbeiten.

2. Es wurde gezeigt, daß die Symptome der „Kräuselkrankheit" weitgehend mit den Schadbildern von Viruskrankheiten an Hopfen in anderen Ländern (Nettleheadkrankheit in England und Kaderavostkrankheit in der Tschechoslowakei) übereinstimmen.

3. Die „Kräuselkrankheit" ist durch Pflanzgut (Fechser) übertragbar, jedoch zeigen solche Jungpflanzen nicht immer Symptome.

4. Durch Bewurzelung von Seitentrieben „kräuselkranker" Pflanzen wurde festgestellt, daß die Krankheit auch durch grünes vegetatives Gewebe übertragbar ist.

5. Die „Kräuselkrankheit" ist durch Pfropfung übertragbar, da ursprünglich gesunde Triebstöcke, die auf kranke Pflanzen gepfropft wurden, nach dem Verwachsen an den neugebildeten Blättern typische Krankheitssymptome zeigten. Preßsaftabreibungen auf ein umfangreiches Testpflanzensortiment verliefen erfolglos.

6. Durch Implantation „kräuselkranker" Triebstücke auf Hopfen und viele Pflanzen eines umfangreichen Testpflanzensortiments ließ sich die Krankheit nicht sichtbar übertragen.

7. Die „Kräuselkrankheit" konnte auch nicht mit *Cuscuta europaea* L., die bevorzugt an Hopfen parasitiert, auf Hopfen, *Urtica dioica* L. und *Urtica urens* übertragen werden.

8. Bei den elektronenoptischen Untersuchungen von Exsudaten sowohl krank als auch gesund bonitierten Blattmaterials stellte sich heraus, daß vorwiegend in Exsudaten von „kräuselkranken" Blättern stäbchenförmige Teilchen gefunden wurden, die auf Grund ihrer weitgehenden Einheitlichkeit, Form und Gestalt für Viruspartikeln angesehen wurden.

9. Das Vermessen der gefundenen Teilchen ergab für das in Hopfen gefundene Virus eine „Normallänge" von 651 $\pm$ 2,8 mμ (1957) bzw. etwa 650 mμ (1958).

10. Aus den bisherigen Untersuchungen ergeben sich folgende Vorbeugungsmaßnahmen:

Bei einer Neupflanzung sollen nur Fechser von Anlagen, die mehrere Jahre hindurch einwandfrei gesund befunden wurden, verwendet werden. Zur Ermittlung solcher befallsfreier Anlagen müßten die zur Fechsergewinnung vorgesehenen Hopfengärten mindestens drei Jahre hindurch zweimal jährlich auf „kräuselkranke" Stöcke sorgfältig überprüft werden.

Stark kranke Stöcke sollen in allen Anlagen ausgehauen und verbrannt werden.

Stöcke, die mehrere Jahre hindurch schwache Symptome zeigen, sollen ebenfalls ausgehauen und verbrannt werden.

Summary

1. On the base of results of investigations carried out from 1957 to 1959 in the Tettnanger hop growing district (Lake Constance) the symptomatology and ecology of the „Kräuselkrankheit" of the hops was described. It was tried to find out the cause and the pathogenesis of this disease and also to develop reducing methods.

2. It has been shown that the symptoms of the „Kräuselkrankheit" are very similar to those of the virus-diseases on hops in other countries (Nettle-head-disease in England and Kaderavost-disease in Czechoslovakia).

3. The disease can be spread by diseased stocks. However not all young plants from diseased stocks show symptoms.

4. By rooting of lateral branches from infected plants it was observed that the disease can be transmitted by green vegetative tissue.

5. The "Kräuselkrankheit" is transmissible by grafting because originally non-infected shoots which had been grafted on infected plants showed the most of the typical symptoms of the disease on the newly developing leaves. Attemps to infect a lot of testplants with sap squeezed from infected leaves have not been successful.

6. The disease could not be transmitted by implantation of infected shoots into many plants of an extensive sortiment of testplants.

7. The "Kräuselkrankheit" also could not be visibly transmitted to hops, *Urtica dioica* L., and *U. urens* L. with *Cuscuta europaea* L. which parasitized hops.

8. Studying exudates of materials which showed symptoms and of those which did not show any symptoms under the electron microscope it was noticed that mainly the exudates of infected leaves contained rodshaped particles, which because of their large uniformity, form, and shape have been considered to be virus particles.

9. These particles had a normal length of 651 ± 2,8 mμ (1957) or about 650 mμ (1958).

10. The studies undertaken so far suggest the following prophylactic measures: only material from plantations which have been absolutely free of the disease for several years should be used for establishing a new plantation. To determine non-infected plantations all hop plantations which are to be used to provide planting material should be carefully surveyed twice a year for at least 3 years.

In all plantations heavily infected plants should be removed and burnt.

Plants which show weak symptoms over a period of several years should also be removed and burnt.

Literaturverzeichnis

Anonym, 1957: Die Hopfenkampagne kann beginnen. — Nach Vortrag Dr. STÖHR anläßlich einer Versammlung der Hopfenpflanzer des Anbaugebietes Tettnang am 23. 8. 1957 in Tettnang. Schwäb. Ztg. Nr. 195.

BEARD, F. H., 1950: Propagation trials with hops. Ann. Rept. East Mall. Res. Stat., 190—192.

— —, 1951: Hops (Seven clonal selections of Golding hops). Ann. Rept. East Mall. Res. Stat., 189—196.

BLATTNY, C., 1930: Studie o kaderavosti chmele. Rec. Inst. Rech. agron. Republ. Tchecoslovaque **56.**

— —, 1956: Einige Ergebnisse der pflanzlichen Virusforschung in der Tschechoslowakischen Republik. Pflanzenschutz-Kongreß 1955, Kongr.-Ber., 47—65, Berlin.

— —, 1958: Mündliche Mitteilung gelegentlich eines Besuches der Phytopath. Abt. der Biologischen Anstalt der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften in Prag.

— —, und C. V. OSVALD ,1949: Predbezny prehled viros chmele a boj proti nim. Ochr. Rostl. **22,** 5—28.

BLUNCK, H., 1955: Fortschritte im Wissen vom Wesen und Wirken der Viruskrankheiten. Z. Pfl.krankh. **62,** 273—352.

BODE, O., 1954: Das Elektronenmikroskop im Dienste der pflanzlichen Virusforschung. In: Pflanzliche Virusforschung. Mitt. Biol. Bundesanst. Berlin-Dahlem **81,** 43—51.

— —, 1958: Morphologie pflanzlicher Viren. In: KLINKOWSKI, Pflanzliche Virologie **1,** 150—161, Berlin.

— —, und E. KÖHLER, 1952: Elektronenoptische Untersuchungen an Kartoffel-X- und Tabakmosaik-Virus. Z. Naturforsch. **7 b,** 598—600.

BONNET, J., and R. COPPENS, 1950: The absorption of nutrient elements by hops. Bull. Inst. agron, Stat. Rech. Gembloux **18,** 21—32.

BRANDES, J., 1952: Ein Beitrag zur Frage der Vermehrung faden- und stäbchenförmiger Pflanzenviren. Naturwissenschaften **43,** 428.

— —, 1958: Mündliche und schriftliche Mitteilungen der Versuchsergebnisse über die elektronenoptischen Untersuchungen des Jahres 1958.

— —, und H. L. PAUL, 1957: Das Elektronenmikroskop als Hilfsmittel bei der Diagnose pflanzlicher Viren. Betrachtung zur Vermessung faden- und stäbchenförmiger Virusteilchen. Arch. Mikrobiol. **26,** 358—368.

BUCHNER, A., 1957: Was ist mit dem Nährstoff Magnesium los? Hopfenrundschau 8, 42—43.

BURGESS, A. H., 1956: Hop growing and drying. London.

ČECH, M., und J. POZDENA, 1957: Prispevek k moznosti mechanickeho prenosu kaderavosti a nekazlive neplodnosti chmele. Sbornik CAZV **30,** 849—854.

DUFFIELD, C. A. W., 1925: Nettlehead in hops. Ann. appl. Biol. **12,** 536—543.

DÜMLEIN, H., 1957: Magnesiummangel heute häufiger als früher. Hopfenrundschau 8, 46—47.

FISCHER, R., 1956: Magnesiummangel und seine Ursachen. Hopfenrundschau 7, 15—16.

HARRIS, R. V., 1950—1954: Plant pathology, Virus diseases of the hops. Ann. Rept. East Mall. Res. Stat. 43 (1950), 41 (1951), 34—38 (1953), 35 (1954).

— —, 1958: Mündliche Mitteilung gelegentlich eines Besuches an der East Malling Research Station, Kent, England.

HEWITT, W. B., D. J. RASKI, and A. C. GOHEEN, 1958: Nematode vector of soilborne fanleaf virus of grapevines. Phytopathology **48,** 586—595.

HOED, F., 1942: Experiments on the value of fertilizers on hops. Bières et Boissons **3,** 101—104.

JOHNSON, J., 1951: Virusparticles in various plant species and tissues. Phytopathology **41,** 78—93.

Keyworth, W. G., 1951: Split leaf blotch disease of the hop (*Humulus lupulus* L.). J. hort. Sci. **26**, 163—168.

— —, and D. L. G. Davies, 1946: Nettlehead disease of the hop. J. Pomol., hortic. Sci. **22**, 134—139.

— —, and M. Hitchcock, 1947: Aereal surveys of the incidence of Nettlehead disease of the hop on former hedgerow and pasture sites. Ann. Rept. East Mall. Res. Stat., 153—156.

— —, and J. Paine, 1949: Diseases of hops. Ann. Rept. East Mall. Res. Stat., 174—179.

Klinkowski, M., 1954: Pflanzenkrankheiten. In: Sorauer, P., Handb. Pfl.krankh. **2**, 6. Aufl., 1. Lief., Berlin und Hamburg.

— —, 1958: Pflanzliche Virologie **1**, Berlin.

Korsmo, E., 1930: Unkräuter im Ackerbau der Neuzeit. Berlin.

Legg, J. T., 1952: The natural spread of nettlehead disease of hops. Ann. Rept. East Mall. Res. Stat., 123—127.

— —, 1954: The spread of the Nettlehead disease and its association with split leaf blotch virus in certain hop varieties. Ann. Rept. East Mall. Res. Stat., 128—132.

— —, 1958: Mündliche Mitteilung gelegentlich eines Besuches an der East Malling Research Station, Kent, England.

— —, and P. I. Ormerod, 1958: The spread of Nettlehead. Ann. Rept. East Mall. Res. Stat., 157—160.

— —, 1959: The effect of split leaf blotch and Nettlehead virus diseases on the field of fuggle hops. J. hort. Sci. **34**, 122—125.

Linke, W., und A. Rebl, 1950: Der Hopfenbau, 2. Aufl., Nürnberg.

Nuber, K., 1958: Über die Beteiligung des Hopfenzystenälchens (*Heterodera humuli* Filipjev) an Mißwuchserscheinungen des Hopfens im Bodenseegebiet. Nachr.bl. dtsch. Pfl.-schutzd., Berlin NF **10**, 103—104.

— —, 1959: Untersuchungen über die „Kräuselkrankheit" an Hopfen (*Humulus lupulus* L.) im Tettnanger Anbaugebiet. Diss. Hohenheim.

Paine, J., 1952: Insect vector studies with mosaic and other diseases of the hop. Ann. Rept. East Mall. Res. Stat., 120—122.

Pozdena, M., 1958: Mündliche Mitteilung gelegentlich eines Besuches der tschechischen Hopfenanbaugebiete um Saaz.

Rademacher, B., B. Weil und K. Nuber, 1958: Untersuchungen über Krankheitserscheinungen an Hopfen (*Humulus lupulus* L.) im Tettnanger Anbaugebiet. Z. Pfl.krankh. **65**, 272—279.

Rentschler, W., 1957: Angewandte Mathematik. Vorlesungsmanuskript, Landw. Hochsch. Hohenheim, 24—30.

Salmon, E. S., 1935: Diseases of hops. J. Inst. Brew. **32**, 235—237.

— —, and W. M. Ware, 1930: The chlorotic disease of the hop. Ann. appl. Biol. **17**, 241—247.

— —, and — —, 1936: Report of Department of Mycology. J. South-East. agric. Coll. Wye **37**, 21—23.

Schmelzer, K., 1958: Übertragungsmöglichkeiten. In: Klinkowski, Pflanzliche Virologie **1**, 52—62, Berlin.

Stöhr, K., 1954: Pflanzenstandsbericht Tettnang. Hopfenrundschau **5**, 220.

— —, 1956: Mündliche Mitteilung.

— —, 1957: Kräuselkrankheit im Hopfengarten. Hopfenrundschau **7**, 174—175.

— —, 1957: Der Stand der Kräuselkrankheit im Anbaugebiet Tettnang. Hopfenrundschau **8**, 252.

Thompson, F. C., 1958: Mündliche Mitteilung gelegentlich eines Besuches am Department of Hop Research, Wye College in Wye, Kent, England.

Thompson, F. C., E. G. Crippes, and A. H. Burgess, 1950: The effect of soil acidity on growth of hops. Some observations on manganese toxity and induced iron deficiency. Wye Coll. Dept. Hop Res. Rept., 43—47.

Uschdraweit, H. A., 1958: Symptomatologie, Virus-Wirt-Verhältnis. In: Klinkowski, Pflanzliche Virologie **1**, 17—51, 103—115, Berlin.

Vuittenez, A., 1958: Mündliche Mitteilung gelegentlich eines Besuches des Hopfenanbaugebietes um Straßburg (Elsaß).

Ware, W. M., 1939: The Nettlehead disease of the hops. J. South-East. agric. Coll. Wye **44**, 41—43.

Wilkinson, E. M., 1947: Progress report on hop diseases. Investigations in the West Midlands. Ann. Rept. Long Ashton Res. Stat., 100—104.

Wormald, H., 1955: Diseases of fruits and hops. 3. Aufl., London.

Zattler, F., 1934: Beiträge zur Kenntnis der Nährstoffaufnahme der Pflanze. Wasserkulturversuche mit Hopfen bei zeitweiliger Darbietung und Entziehung von Kalium, Phosphor, Stickstoff und Kalzium. Prakt. Bl. Pfl.bau, Pfl.schutz **34**, 99—154.

— —, 1956: Über Viruskrankheiten bei Kulturpflanzen, insbesondere beim Hopfen. Hopfenrundschau **7**, 213—219.

— —, 1958: Versuchs- und Forschungstätigkeit auf dem Hopfenversuchsgut Hüll und in den Hopfenanbaugebieten im Jahre 1957. Dtsch. Brauwirtsch. **12**, 3—11.

Kurze Mitteilung

Aus dem Institut für Phytopathologie Aschersleben
der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie
der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin

Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski

Ein latentes Virus in deutschen Apfelsorten und -unterlagen

Von

H. Kegler

Mit einer Abbildung

Bei Versuchen mit Kernobstvirosen wurden in vergangenen Jahren Apfelsorten und Wildarten entdeckt, mit deren Hilfe Viren nachgewiesen werden konnten, die bei Übertragungen auf die gebräuchlichen Apfelindikatoren bisher unerkannt geblieben waren. Diese Viren zeichnen sich dadurch aus, daß sie nur bei bestimmten Sorten oder Arten sichtbare Krankheitserscheinungen hervorrufen. Bei den meisten im Anbau befindlichen Sorten und Unterlagen, auch bei den als Indikatoren verwendeten Sorten, bleiben sie dagegen latent. Sie werden deshalb als „latente Viren" bezeichnet.

Durch latente Viren des Apfels werden besonders an „Spy 227" und „Crab"-Sorten die Stammrillung (stem pitting) (Guengerich und Millikan 1956, 1959), an *Malus platycarpa* Rehd. das Bandmosaik (line pattern) oder die Verzwergung (dwarfing) (Luckwill und Campbell 1959) und an dem Russischen Sämling „R 12 740/7A" die chlorotische Blattfleckung (chlorotic leaf spot) (Mink und Shay 1959) hervorgerufen.

Der Nachweis dieser Viren veranlaßte uns, neben anderen Indikatoren *Malus platycarpa* Rehd. und „Spy 227" bei der Testung von Apfelmutterbäumen zu verwenden.

MATERIAL UND METHODEN

Im Frühjahr 1961 wurden durch Doppelpfropfung im Gewächshaus bzw. Doppelokulation im Freiland bei Verwendung von Apfelsämlingen folgende Mutterpflanzen getestet:

Sieben Reisermutterbäume der Sorten „Ontario“ und „Komsomolez“ aus dem VEG Saatzucht, Spezialbetrieb für Obstbau und Baumschulen, Magdeburg-Ottersleben,

18 Unterlagenmutterpflanzen der Typen „EM IV“ und „EM XI“ aus dem VEG (Z) Saatzucht (Wildlingsanzucht) Altenweddingen und

sieben Unterlagenmutterpflanzen des Typs „EM IX“ aus dem Institut für Phytopathologie Aschersleben.

Alle Mutterpflanzen wurden in den Vorjahren wiederholt von uns auf sichtbaren Befall durch Obstviren untersucht und zeigten keine virusbedingten oder -verdächtigen Symptome.

Bei der Doppelpfropfung wurden jeweils drei Reiser gemeinsam mit den Indikatoren „Lord Lambourne“, „Spy 227“ und *Malus platycarpa* Rehd. (LUCKWILL-Klon) auf austreibende Apfelsämlinge gepropft.[1]) Bei der Doppelokulation wurden jeweils vier Knospen von Winterreisern der Mutterpflanzen unter Knospen der gleichen Indikatoren in ausgetriebene Apfelsämlinge veredelt. Von den gleichen Indikatorreisern wurden zur Kontrolle jeweils fünf Veredlungen auf Apfelsämlinge vorgenommen (Abb. A).

ERGEBNISSE

Wenige Wochen nach erfolgtem Austrieb traten an Blättern der meisten *M. platycarpa*-Pflanzen hellgrüne Flecke und Deformationen auf (Abb. B). Später gebildete Blätter dieser Pflanzen zeigten deutlich hellgrüne ring- oder linienförmige Flecke (Abb. C und D). Die Symptome traten an allen Blättern der Triebe und jeweils bei allen Übertragungen von der betreffenden Mutterpflanze auf. Die gefleckten Blätter waren in der Regel kleiner als diejenigen gesunder Pflanzen.

Bei einigen *M. platycarpa*-Pflanzen war neben dem Bandmosaik deutliche Triebstauchung festzustellen.

Nachweis des latenten Bandmosaiks bei Apfeltestungen 1961

Sorte	Kranke/getestete Mutterpflanzen
Ontario	4/6
Komsomolez	1/1
EM IV	5/10
EM IX	5/7
EM XI	5/8

An dem Indikator „Lord Lambourne“ wurden keine Symptome beobachtet, „Spy 227“ zeigte Epinastie.

Die Häufigkeit des Vorkommens des Bandmosaiks geht aus den Angaben der Tabelle hervor.

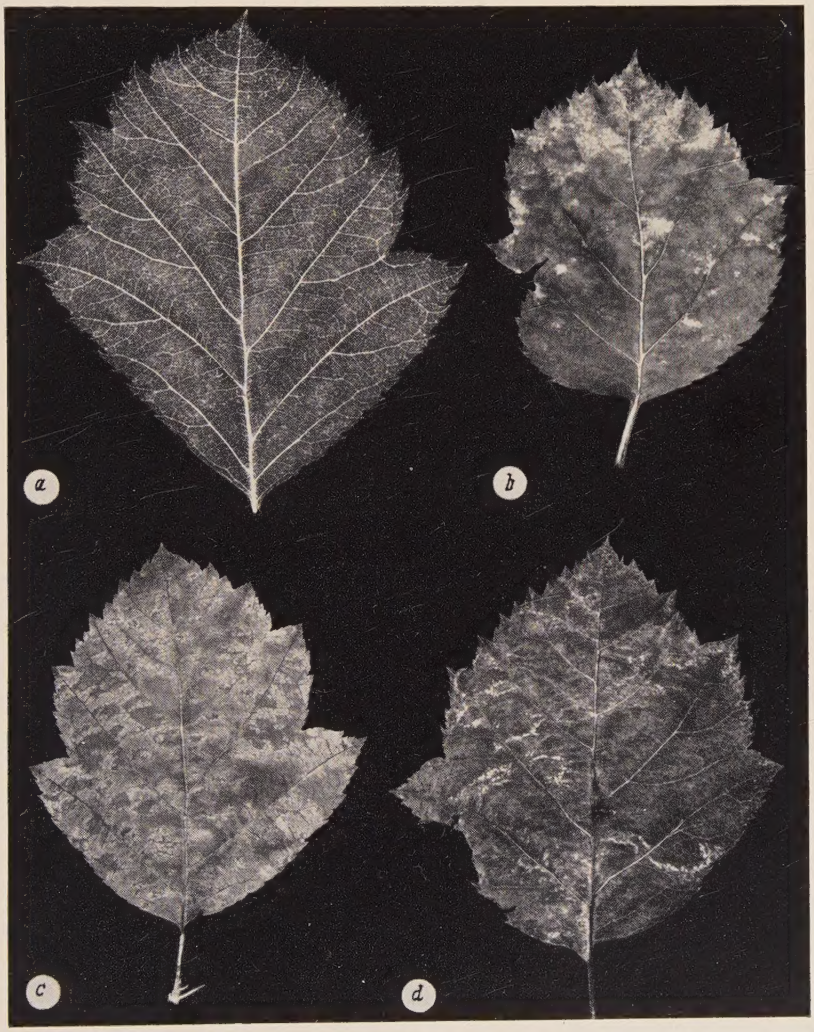
DISKUSSION

Die an *M. platycarpa* aufgetretenen Blattsymptome ähneln weitgehend dem erstmalig von LUCKWILL und CAMPBELL (1959) bei der Testung englischer

[1]) Den Herren Prof. Dr. K. D. BRASE und Dr. R. M. GILMER, Geneva, sowie Herrn Dr. C. A. R. MEYNEKE, Wageningen, möchte ich für Indikatorreiser herzlich danken.

Apfelsorten und -unterlagen festgestellten „line pattern". Es ist wahrscheinlich, daß unser Virus mit dem englischen verwandt oder identisch ist.

Gilmer und Brase (1961) fanden, daß gleiche Virusherkünfte bei *M. platycarpa* Bandmosaik und bei „R 12740/7 A" chlorotische Blattflecke hervorrufen. Sie vermuten daher, daß das „platycarpa line pattern virus" mit dem „chlorotic leaf spot virus" identisch ist. Dieses Virus wurde von Shay und Mink (1961) auch in europäischen Apfelsorten nachgewiesen. Da wir „R 12740/7 A" bisher zur Testung nicht verwendeten, sind keine Aussagen über mögliche Identität unseres Bandmosaiks mit dem „chlorotic leaf spot virus" möglich.



Blattsymptome eines latenten Apfelvirus an *Malus platycarpa* Rehd.
a = gesunde Kontrolle; b = hellgrüne Blattflecke; c = hellgrüne ringartige Flecke; d = hellgrüne Linien

Der ausgeprägte Kümmerwuchs bei einigen Trieben von *M. platycarpa* läßt vermuten, daß ein weiteres latentes Virus bei unseren Äpfeln vorkommt, welches in den Versuchen von LUCKWILL und CAMPBELL Verzwergung hervorrief. Da bei uns Kümmerwuchs und Bandmosaik stets gemeinsam auftraten, lagen vermutlich Mischinfektionen vor.

Über das Ausmaß des Befalles unserer Apfelbestände durch latente Viren ist noch keine endgültige Aussage möglich, es ist jedoch mit einer starken Verbreitung zu rechnen. Die Auslese getesteter und gesunder Mutterpflanzen zur weiteren Vermehrung in Kernbeständen wird durch das Vorkommen latenter Viren erschwert. Es erscheint angebracht, der Testung mit bisher üblichen Indikatoren durch Doppelokulation im Sommer eine „Vortestung" gegen latente Viren durch Doppelpfropfung im Frühjahr voranzuschicken.

Zusammenfassung

An den Apfelsorten „Ontario" und „Komsomolez" sowie den Unterlagen „EM IV", „EM IX" und „EM XI" wurde durch Übertragung auf *Malus platycarpa* Rehd. (LUCKWILL-Klon) ein Virus nachgewiesen, das an den Blättern dieses Indikators hellgrüne Flecke, Ringe oder Linien hervorruft.

Literaturverzeichnis

GILMER, R. M., and K. D. BRASE, 1961: The association of chlorotic leaf spot virus of apple with decline of Spy 227 rootstocks. Phytopathology **51**, 457—461.

GUENGERICH, H. W., and D. F. MILLIKAN, 1956: Transmission of the stem pitting factor in apple. Plant Dis. Reptr. **40**, 934—938.

— —, and — —, 1959: Reaction of own-rooted trees of Spy 227 and Virginia Crab to infection with the stem-pitting virus. Plant Dis. Reptr. Suppl. **254**, 30—31.

LUCKWILL, L. C., and A. J. CAMPBELL, 1959: Malus platycarpa as an apple virus indicator. J. hortic. Sci., London, **34**, 248—252.

MINK, G. J., and J. R. SHAY, 1959: Preliminary evaluation of some russian apple varieties as indicators for apple viruses. Plant Dis. Reptr. Suppl. **254**, 13—17.

SHAY, J. R., and G. J. MINK, 1961: Chlorotic leaf spot and its relationship to other virus disorders of apple. T. Planteavl, Kopenhagen, im Druck.

Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

Von Prof. Dr. H. Braun, Dir. d. Instituts f. Pflanzenkrankheiten der Univ. Bonn, Dr. E. Riehm, Präsident i. R. der Biolog. Reichsanst. f. Land- und Forstwirtschaft

8., neubearbeitete Auflage. 1957. 376 Seiten mit 346 Abb. Ganzleinen DM 29,80

Das international bekannte Standardwerk vermittelt einen für Praxis und Studium gleich wertvollen Überblick über das Gesamtgebiet der Phytomedizin. Während im allgemeinen Teil alles Wesentliche über Begriffe, Erscheinen, Ursachen, Entstehung und Verlauf der Krankheiten, über die pflanzlichen und tierischen Schädlinge sowie über Maßnahmen und Organisation des Pflanzenschutzes gesagt ist, bringt der spezielle Teil eine ins einzelne gehende Darstellung der Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen. Der besondere Vorzug des Buches liegt in der reichen Illustrierung mit einmaligen, instruktiven Abbildungen.

„Der Braun/Riehm ist längst zum unentbehrlichen Rüstzeug in der Praxis des Pflanzenarztes geworden, ebenso ist er aber auch eine wertvolle Hilfe für das Studium, da er — knapp und klar abgefaßt — einen hervorragenden Überblick über das Gesamtgebiet der Pflanzenkrankheiten vermittelt." *Mitteilungen der Münchener Entomologischen Gesellschaft e. V.*

Farbtafelatlas der Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen

Von E. Gram, P. Bovien und C. Stapel

Herausgegeben vom Landwirtschaftlichen Informationsdienst Kopenhagen

1956. 128 Seiten mit 720 mehrfarbigen Abbildungen auf 112 Tafeln.
Bilderklärungen in Deutsch, Englisch und Dänisch, Sachregister viersprachig (Latein).
Ganzleinen DM 19,50.

Hier liegt erstmals eine so umfangreiche Zusammenstellung von mehrfarbigen Abbildungen kranker und von Schädlingen befallener landwirtschaftlicher Kulturpflanzen in Ganz- und Teildarstellung sowie der Schädlinge selbst in einer derart wirklichkeitsnahen und naturgetreuen Wiedergabe vor. Jeder Bildtafel gegenübergestellt ist eine kurze Erklärung in dänischer, englischer und deutscher Sprache; das Sachregister am Ende des Buches bringt außerdem auch noch die lateinischen Bezeichnungen.

„Voraussetzung für einen erfolgreichen Pflanzenschutz ist das sichere Erkennen von Krankheiten und Schädlingen sowie deren Symptome. Da die typisierende bildliche Darstellung hierfür die wirkungsvollste Demonstrationsunterlage ist, muß es für einen wirkungsvollen Pflanzenschutz unerläßlich sein, einen den ganzen Bereich der Schadensmöglichkeiten berücksichtigenden Bildkatalog zur Hand zu haben." *Deutsche Landwirtschaftliche Presse*

VERLAG PAUL PAREY · BERLIN UND HAMBURG

Wir empfehlen zum Bezug:

Zeitschrift für Pflanzenzüchtung

Begründet 1913 von C. Fruwirth. Herausgegeben von E. Åkerberg, Svalöf; H. Kappert, Münster; H. Kuckuck, Hannover-Herrenhausen; W. Rudorf, Köln-Vogelsang; H. Stubbe, Gatersleben; E. v. Tschermak, Wien.

Erscheinungsweise: jährlich etwa 8 Hefte in zwangloser Folge. 4 Hefte bilden einen Band, jedes Heft umfaßt etwa 7 Druckbogen. Abonnementspreis: je Druckbogen (16 Seiten) etwa DM 4,—. Die Hefte werden einzeln berechnet. Das Abonnement verpflichtet zur Abnahme jeweils kompletter Bände.

Was die Wissenschaft in ihren Instituten und Laboratorien erforscht und entdeckt, was die Praxis erprobt und für die Allgemeinheit zur Durchführung bringt, findet in der Zeitschrift seinen Niederschlag und trägt dazu bei, die weiten Gebiete der Pflanzenzüchtung im In- und Ausland zu fördern und zu befruchten. In ihr werden mit instruktiven Abbildungen versehene Originalarbeiten in deutscher, englischer oder französischer Sprache veröffentlicht, ferner Sammelberichte, Buchbesprechungen und Referate von Einzelarbeiten aus dem Gebiet der botanischen Züchtungsforschung und der praktischen Züchtung von landwirtschaftlichen gärtnerischen und forstlichen Nutzpflanzen. Jeder Arbeit schließt sich eine kurze Zusammenfassung in deutscher und englischer Sprache an.

Zeitschrift für Acker- und Pflanzenbau

Begründet 1853. Herausgegeben von W. Brouwer, Stuttgart-Hohenheim; O. Tornau, Göttingen, unter der Mitwirkung von A. Arland, Leipzig, und E. Klapp, Bonn.

Erscheinungsweise: Jeder Band umfaßt 4 Hefte zu je 5 bis 10 Druckbogen. Jährlich erscheinen etwa 10 Hefte. Bezugspreis je Druckbogen (16 Seiten) etwa DM 4,80. Das Abonnement verpflichtet zur Abnahme jeweils kompletter Bände.

Die traditionsreiche Zeitschrift erscheint als zentrales Veröffentlichungsorgan der deutschen Hochschulinstitute für Acker- und Pflanzenbau. Darüber hinaus erfaßt sie in abbildungsreichen Originalarbeiten, die eine deutsche und englische Zusammenfassung enthalten, und Buchbesprechungen die gesamte wissenschaftliche Arbeit auf diesem Gebiet. Sie ist besonders wertvoll für alle Acker- und Pflanzenbauer, für Forscher, Kulturtechniker, Pflanzenzüchter, Pflanzenärzte, Bodenkundler und Botaniker, die aus ihr für wissenschaftliche Forschungsarbeiten und praktische Tätigkeit wertvolle Anregungen schöpfen.

VERLAG PAUL PAREY · BERLIN UND HAMBURG